

**HERSTELLUNG UND PRÜFUNG EINES IMPFSTOFFES
AUS CAMPYLOBAKTER FETUS**

Engelbert Albrecht

1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für med. Mikrobiologie, Infektions-
und Seuchenmedizin, Fachbereich Tiermedizin,
der Ludwig-Maximilians-Universität, München
Vorstand: Professor Dr.Dr.h.c. Anton Mayr

und

Aus dem Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt
Aulendorf
Vorstand: Leit. Dir. Professor Dr. K. Dedié

HERSTELLUNG UND PRÜFUNG EINES IMPFSTOFFES
AUS CAMPYLOBAKTER FETUS

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der
Ludwig-Maximilians-Universität München



von
Engelbert Albrecht
aus
Ulm / Donau

München 1978

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich

Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. H. Bostedt

Tag der Promotion: 24. Februar 1978



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A EINLEITUNG	1
B SCHRIFTTUM	
1. <u>Definition und Klassifizierung des Erregers</u>	2
2. <u>Bedeutung der Campylobakter fetus venerealis Infektion beim Rind</u>	5
3. <u>Bekämpfung der Campylobakter fetus-Infektion</u>	7
3.1. Seuchenhygienische Maßnahmen	7
3.2. Behandlung	7
3.3. Immunisierung	8
3.3.1. Immunreaktion nach natürlicher Infektion	8
3.3.2. Immunreaktion nach Immunisierung	10
3.3.3. Herstellung von Campylobakter fetus-Impfstoffen	11
3.3.3.1. Impfstämme	11
3.3.3.2. Züchtung	13
3.3.4. Lebendimpfstoffe	13
3.3.5. Impfstoffe aus inaktivierten Erregern	14
3.3.6. Adjuvantien	14
3.3.7. Wirksamkeitsprüfung bei Campylobakter fetus-Impfstoffen	15
3.3.8. Passive Immunisierung	16
3.3.9. Impfschäden	16
C EIGENE UNTERSUCHUNGEN	
I <u>MATERIAL UND METHODEN</u>	22
1. <u>Versuchstiere</u>	22
2. <u>Herstellung des Impfstoffes</u>	22
2.1. Impfstamm	22
2.2. Züchtung	23
2.3. Dichteeinstellung und Bestimmung der Zellzahl	24
2.4. Inaktivierung	24
2.5. Zubereitung der Vakzine	25
3. <u>Immunisierungsmodus</u>	25
4. <u>Prüfung auf Unschädlichkeit</u>	25
5. <u>Prüfung auf Immunogenität</u>	26

	Seite
5.1. Aktiver Schutzversuch beim Bullen	26
5.2. Antikörpernachweis	27
5.2.1. Komplementbindungsreaktion	27
5.2.2. Blutserumagglutination	27
5.3. Feldversuch	28
 II <u>ERGEBNISSE</u>	
1. <u>Kinetik der Formalininaktivierung</u>	29
2. <u>Ergebnis der Prüfung auf Unschädlichkeit</u>	31
3. <u>Ergebnis der Prüfung auf Immunogenität</u>	32
3.1. Aktiver Schutzversuch beim Bullen	32
3.2. Antikörpertiter nach der Impfung	34
3.2.1. Komplementbindungsreaktion	34
3.2.2. Blutserumagglutination	36
4. <u>Ergebnis des Feldversuchs</u>	36
 D BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	39
 E ZUSAMMENFASSUNG UND SUMMARY	44
 F LITERATURVERZEICHNIS	46
 LEBENS LAUF	

A EINLEITUNG

Die Campylobakter fetus-Infektion des Rindes (Vibriosis genitalis) wurde zunächst nur als Ursache sporadischer Aborte ermittelt (104, 52). Als Deckseuche erkannten sie erst Plastridge 1947 (89) und Stegenga 1949 (108).

Die Infektion wurde in der Deckinfektionsverordnung vom 29.12.1937 nicht namentlich genannt, konnte aber trotzdem bei Auftreten von gehäuften Genitalerkrankungen und Zuchtschäden veterinärpolizeilich bekämpft werden. In der neuen Deckinfektionsverordnung (Rind) vom 3.6.1975 ist die Vibrionenseuche jedoch ausdrücklich aufgeführt, und eine Ermittlung von *C.fetus venerealis* hat seitdem weitgehende veterinärpolizeiliche Folgen, z.B. die Sperre von Besamungsbullen oder eine zweijährige Besamung infizierter Deckringe. Da bei Besamungsbullen sowohl die Einschleppung in die Station von außen (11, 36) als auch eine extragenitale Übertragung von Bulle zu Bulle innerhalb der Station nachgewiesen wurden (3, 2, 88, 101, 12), sind Besamungsbullen unter Impfschutz gestellt worden (114, 112). Auch die Campylobakteriose in Deckringen ist schon durch Bullenschutzimpfung bekämpft worden (23, 13). In diesem Rahmen wurde mir die Aufgabe gestellt, nach den Angaben von Clark (29, 23) und Bouters et al (13) eine Campylobaktervakzine herzustellen und sie an Bullen auf Unschädlichkeit und Wirksamkeit zu prüfen.

B SCHRIFTTUM

1. Definition und Klassifizierung des Erregers

Campylobakter fetus als Ursache einer mit Fruchtbarkeitsstörungen verbundenen Deckinfektion beim Rind (89, 108, 109, 42, 62, 1, 68) wird auf Grund seiner Morphologie zur Familie Spirillaceae gestellt. Hier wird die neue Bezeichnung Campylobakter (115) anstelle des früher gebräuchlichen Namens Vibrio (105) übernommen.

Zur Familie Spirillaceae gehören helikal gekrümmte Stäbchen, die eine oder mehrere polare Geißeln besitzen und sich charakteristisch fortbewegen. Sie sind aerob oder obligat mikroaerob und können im allgemeinen keine Kohlenhydrate fermentieren. Sie sind oxidase-positiv und indol-negativ (65, 106).

Zu dieser Familie gehören die beiden Gattungen Spirillum und Campylobakter. Die Gattung Spirillum erweist sich bei der biochemischen Untersuchung als katalase-positiv, wächst beim Zusatz von 1 % Galle zur Bouillon, aber nicht in Nährlösung der 0,1 % Selenit oder 1 % Glycin zugefügt wurde (65). Die Gattung Campylobakter unterscheidet sich von den Spirillen durch ihre charakteristische korkenzieherartige Bewegung und die monotriche Begeißelung. Zur Spezies C.fetus rechnen gekrümmte, gramm-negative Stäbchen, die mikroaerophil, katalase- und oxidase-positiv sind, keine Nitritreduktion aufweisen und empfindlich gegen den Zusatz von 3,5 % NaCl zur Bouillon sind (15, 16, 66, 48, 8, 106). Erreger von Deckinfektionen beim Rind ist nur die gegen 1 % Glycin empfindliche, katalase-positive Subspezies C.fetus fetus (16, 48). Die Subspezies intestinalis und jejuni, die vor allem beim Schaf zu enzootischen Aborten führen, tolerieren 1 % Glycin. Die Subspezies jejuni wächst nicht bei 25°C, was die Subspezies intestinalis und fetus tun. Ebenfalls zu dieser Gattung gehört die Subspezies C.sputorum bubulus, die im Genitaltrakt des Rindes oft vorkommt und auf Grund ihrer Form und ihrer biochemischen Eigenschaften (katalase-negativ, Toleranz von 3,5 % NaCl-Zusatz zur Bouillon) leicht von den anderen Spezies abzutrennen ist (106).

Zur Familie Vibrionaceae rechnen gestreckt oder gekrümmte durch polare Geißeln bewegliche Stäbchen, welche meist fakultativ anaerob sind und Kohlenhydrate fermentieren als auch oxidieren können. Sie lassen sich deshalb leicht durch die Gelatineverflüssigung und die Indolbildung nachweisen. Die Gattung *Vibrio* besitzt meist eine polare Geißel, ist oxidase-positiv und wächst beim Zusatz von 3,5 % NaCl zur Bouillon (103). Die Gattung *Aeromonas* besitzt polare Geißeln meist an beiden Polen, ist fakultativ anaerob und oxidase, als auch katalase-positiv. Sie verträgt keine so hohen NaCl-Zusätze zur Bouillon wie die Gattung *Vibrio* (98).

Die Spezies *C.fetus* kann nach ihren phenollöslichen (78) bzw. hitzebeständigen Antigenen in mehrere Serotypen unterteilt werden. Durch Antigenanalyse können Körperantigene, die hitzestabile phenollösliche Lipopolysaccharide sind, von Oberflächenantigenen (hitzelabilen Glykoproteinen) unterschieden werden (95, 8). Es wurden bisher drei hitzestabile Antigene festgestellt, die mit A, B und C bezeichnet wurden. Hitzelabile Antigene wurden bis jetzt sieben isoliert (8). Ein Stamm enthält selten mehr als ein hitzestabiles Antigen (78), während die Zahl der hitzelabilen Antigene zwischen einem und fünf Antigenen variiert (8). Die Oberflächenantigene sind bei den nach Körperantigenen bezeichneten Serotypen ungleich verteilt. Die zu einem Serotyp gehörenden Stämme können ein oder mehrere gleiche oder aber verschiedene Oberflächenantigene enthalten (8, 31). Außerdem sollen nach Wiidik und Hlidar (118) noch hitzebeständige Kapsel- (K-) Antigene wie bei den Enterobacteriaceen vorkommen. Sie beschreiben auch eine H-Agglutination bzw. ein H- (Geißel-) Antigen, das in geringer Menge vorkommt, konnten jedoch durch die Blutserumlängsamagglutination (BSLA) keine klare Trennung der Faktoren erreichen. Während die hitzestabilen Körperantigene sich nur ausnahmsweise verändern (81, 117), scheinen die hitzelabilen Oberflächenantigene sich während einer Infektion unter dem Selektionsdruck spezifischer Antikörper zu verschieben (99, 34).

Tabelle 1 :

Antigentypen, Vorkommen und einfache Differenzierung von Campylobacter fetus

Gruppenbezeichnung nach Berg (8)	Antigentypen nach Mitscherlich Marsh u. Ließ (78)	Antigentypen nach Firehammer (72)	Vorkommen		Differenzierung 1%Glycin-H ₂ S in Cystin Bouillon	0,1% NaSe. Reduktion	Bezeichnung nach Florent (47)
			Rind	Schaf			
A-1 (A sub 1)	O1	III	Deckinfektion und Abort	?	(+) 1)	-	C.(V)fetus venerealis
					- 2)		
A-2	O1	V	sporadische Aborte	enzootische Aborte	+	+	C.(V)fetus intestinalis
B	O2	II	sporadische Aborte	enzootische Aborte	+	+	C.(V)fetus intestinalis

1.) Im Untersuchungsmaterial des Staatlichen tierärztlichen Untersuchungsamt Aulendorf (37) finden sich Stämme, die 1 % Glycin noch tolerieren, aber serologisch und nach dem sonstigen Biotyp zu C.fetus venerealis gehören und auch venerisch übertragbar sind.

2.) Der von Berg (8) als A sub 1 und von Clark als C.fetus fetus Biotyp intermedius bezeichnete H₂S positive, aber venerisch übertragbare Untertyp des C.fetus ven. trat im vorliegenden Untersuchungs-material nicht auf.

3.) Die Bezeichnungen "venerealis" und "intestinalis" folgen Florent (47) und der Deckinfektionsordnung (Rind) vom 3.6.1975. Sie dienen der Unterscheidung venerisch übertragbarer von nicht venerisch übertragbaren Typen bzw. Biotypen in der Praxis der Tierseuchenbekämpfung.

2. Bedeutung der Campylobakter fetus venerealis Infektion beim Rind

Die Verbreitung der C.fetus ven.-Infektion ist stark von der Organisationsform der Tierzucht abhängig (113, 56). In 1954 bis 1964 in Deutschland angestellten Untersuchungen wird über eine flächenhafte Verbreitung in Deckringen, aber auch starken Befall in Besamungsstationen berichtet (36, 79, 11). Bei den um diese Zeit in Dänemark (4), Belgien, Schweden, USA, (80) und Südafrika (42) durchgeführten Untersuchungen wurde ebenfalls ein hoher Verseuchungsgrad festgestellt, besonders auch in Besamungsstationen. Die Verbreitung der Infektion ist weltweit (67). Heute mag in manchen Ländern dank zielstrebigter Bekämpfung oder geänderter Zuchtmethoden die Infektion an Bedeutung verloren haben (61). Bei genauerer Untersuchung hat sich jedoch die Campylobakter fetus-Infektion bei gewissen Formen der Vater-tierhaltung noch immer als erheblich verbreitet erwiesen (37, 112).

Bei der durch C.fetus ven. hervorgerufenen Infektion des Rindes handelt es sich um eine ausgesprochene Deckinfektion (80), die durch den Deckakt mit infizierten Bullen (Samen- und Kontaktinfektion) (114, 108, 62, 109, 42, 1) oder durch die künstliche Besamung mit infiziertem Sperma (113, 46) übertragen wird. Extragenitale Kontaktinfektionen wurden nur vereinzelt festgestellt. Die weitere Verbreitung im Deckring erfolgt enzootisch (48), wobei dem Bullen als Zwischenglied der Infektionskette eine besondere Bedeutung zukommt (113, 25). Eine Verbreitung über größere Entfernungen ist durch Besamungsbullen und den Handel mit Zuchtbullen, Nutz- und Zuchttieren möglich (36). Als das Besamungssperma noch nicht frei von Campylobakter fetus ven. war, kam es durch abwechselndes Decken und Besamen zu flächenhafter Verbreitung der Infektion unter den Zuchtbullen und zahlreichen Rinderbeständen, gegebenenfalls nur im Bereich bestimmter Besamungsstationen (36, 113, 46). Gegenwärtig führt gemischtes Decken mit infizierten Bullen und Besamen mit Campylobakter fetus freiem Sperma im

gleichen Bestand bzw. Deckring eher zur Einschränkung der Infektionen und zum Verwischen des klinischen Bildes, da die Tierbesitzer bei vermehrtem Umrindern nach Decken mit infizierten Bullen auf die heute hygienisch einwandfreie Besamung ausweichen können (35).

Die Einschleppung und Ausbreitung der C.fetus-Infektion bleibt in den Beständen zunächst unbemerkt. Infizierte Bullen zeigen in der Regel weder klinische Symptome noch sind Spermaveränderungen feststellbar (114, 25). Die infizierten weiblichen Tiere rindern auf Grund der Infektion vermehrt und in unregelmäßigen Intervallen um, die Konzeption verzögert sich dadurch (80, 44, 50), und es treten besonders im 3. - 6. Trächtigkeitsmonat Aborte auf (114, 80, 25). Durch die Ausbildung einer vor allem lokalen Immunität im Genitaltrakt der weiblichen Tiere wird die Infektion eingeschränkt, sie persistiert aber bei vor allem älteren Bullen (115, 97, 18), vereinzelt aber auch im Uterus tragender, oder im Cervixbereich immuner Kühe (114, 58). Da die meisten Rinder erst nach mehreren Bedeckungen wieder konzipieren, verursacht die Infektion mit C.fetus ven. dem Tierhalter durch verlängerte Zwischenkalbezeit einen wirtschaftlichen Schaden. Er wurde in Deutschland 1958 auf durchschnittlich 265 DM pro Tier der infizierten Herde geschätzt (36, 79). Nach Lawson (69) belief sich 1956 der Schaden der durch C.fetus ven. bedingten Fruchtbarkeitsstörungen in den USA auf jährlich 137 Mill. Dollar. Heute sind die Schäden aus den o.a. Gründen wahrscheinlich geringer.

3. Bekämpfung der Campylobakter fetus-Infektion

Seit Inkrafttreten der Deckseuchenverordnung (Rinder) (VO.3.6.75) die in Deutschland das Verhängen weitgehender Schutzmaßregeln vorsieht, muß noch mehr als bisher mit der Bekämpfung eine Tilgung der Deckinfektion erreicht werden. Sie wird auf folgende Weise versucht:

3.1. Seuchenhygienische Maßnahmen

Eine Decksperrre (VO.29.12.1938) und der zeitweilige Übergang zur künstlichen Besamung führen erfahrungsgemäß zum Erfolg, da nach dem Ausschalten der venerischen Übertragung sich die Infektion beim weiblichen Tier meist innerhalb eines, mit Sicherheit aber im zweiten Zuchtjahr selbst begrenzt (113, 114, 80). Die Besamung stößt jedoch nicht selten auf den Widerstand der Tierhalter und Zuchtverbände oder ist bei extensiven Haltungsformen nicht immer durchführbar (25, 59). Ebenfalls zu einer Einschränkung der Infektion soll es durch Bullenwechsel und den Einsatz besonders von Jungbullen kommen (25). Des weiteren tragen dazu die Einhaltung der vorgeschriebenen Deckordnung und Hygiene in Bullenhaltungen und hygienische Maßnahmen in infizierten Rinderbeständen bei (36), sowie die vorbeugende Untersuchung von Handelstieren, rindernden Kühen und Besamungsbullen (2, 80, 5).

Der Zusatz von Antibiotika zum Besamungssperma insbesondere Penicillin und Streptomycin schränkt ebenfalls die Verbreitung der Infektion ein (91, 84, 41, 74).

Da jedoch die Ansichten über die Wirksamkeit antibiotischer Zusätze im Besamungssperma zur Ausschaltung von Kontaminationen wie C.fetus auseinander gehen (74, 84), müssen die Besamungsbullen frei von C.fetus gehalten werden (36).

3.2. Behandlung

Zur örtlichen und allgemeinen Behandlung von Bullen wird vor allem Antibiotika eingesetzt besonders Streptomycin, Erythromycin und Tetracycline (76, 113, 59, 70).

Daneben werden beim Bullen zur lokalen Behandlung noch antiseptische Salben und Flüssigkeiten verwendet (113, 67). Die Behandlung umrindernder Kühe oder Kühe nach Aborten wird meist mit antibiotischen Infusionen durchgeführt, auch eignen sich Jodderivate und Acridinfarbstoffe zu Uterusinfusionen und Scheidenspülungen (67). Durch die Behandlung allein ist die Tilgung der Infektion jedoch nicht möglich, da es zu Rückfällen und Reinfektionen kommen kann (113, 102, 59).

3.3. Immunisierung

Es wurde versucht, die Infektion durch prophylaktische Schutzimpfung der weiblichen Tiere zu bekämpfen. (90, 56, 44, 82, 51, 22, 58, 119, 62, 6, 7, 26, 27, 28, 100). Deck- und Besamungsbullen wurden ebenfalls prophylaktisch immunisiert (13, 29, 112), und es wurde die Bekämpfung der Infektion bei infizierten Bullen durch therapeutische Schutzimpfung mit oder ohne gleichzeitige antibiotische Behandlung geprüft (13, 23). Die Schutzimpfung aller weiblichen Tiere ist jedoch aufwendig, und es steht derzeit nicht genügend Vakzine zur Verfügung (35). Die Schutzimpfung von Deck- und Besamungsbullen erscheint wirtschaftlich und bei jährlicher Wiederholung sicher genug gegen eine Reinfektion (13, 29).

3.3.1. Immunreaktion nach natürlicher Infektion

Die einer Infektion folgende Immunität wurde vor allem beim weiblichen Tier untersucht. Etwa 10 % der weiblichen Tiere sollen eine natürliche Resistenz gegen C.fetus besitzen (114). Die Infektion führt zu einer Fruchtbarkeitsstörung, die sich durch Ausbildung einer Konvaleszentenimmunität selbst begrenzt (19, 63, 25). Die durchschnittliche Dauer der Infektion beträgt 180 Tage, und die meisten Tiere werden nach 4 - 6 Bedeckungen wieder tragend (44). Im Uterus ist die Infektion schon nach etwa 50 Tagen nicht mehr nachweisbar, während die Cervix erst nach 3 - 4 Monaten wieder frei von Erregern wird (113).

1 - 2 Monate nach der Infektion (119) treten im Vaginalschleim

Antikörper in der Reihenfolge IgM, IgA und IgG auf (86). Die meisten Untersucher konnten nur IgA nachweisen (119), das hauptsächlich gegen das O-Antigen gerichtet ist. Aus Titrationsversuchen ergab sich, daß IgA das mengenmäßig bedeutendste Immunglobulin im Cervical- und Vaginalschleim darstellt, IgM bald wieder verschwindet und IgG nur 8 Wochen lang nach Erlöschen der Infektion noch vorhanden ist (32). Im Uterus bewirkt die Infektion 14 Tage nach ihrem Auftreten Läsionen, und es kommt zu lokaler und diffuser Lymphozytose, Plasmozytose, Vakuolenbildung von Epithelzellen und gegebenenfalls Neutrophileninfiltration (114, 39, 87, 119). Durch die Penetration von Campylobakter fetus oder ihren Antigenen und dadurch bedingtem Kontakt mit immunkompetenten Zellen des subepithelialen Gewebes kann eine humorale Immunantwort hervorgerufen werden (119). Es wurden IgM, IgA und IgG Antikörper in den Uterussekreten gefunden, von denen IgG₁ die dominierende AK-Klasse war (32). Die lokale Infektion führt nicht immer zu diagnostisch verwertbarer Erhöhung des Serum-Antikörpertiters (121, 119, 78).

Nach Clark (20) verhindert die Konvaleszenzimmunität weniger die Infektion selbst, als vor allem ihre pathogenen Auswirkungen. Die IgA besitzen eine stark immobilisierende Wirkung auf die Bakterien, sind aber kaum oder gar nicht opsonophagozytisch. Deshalb kann das IgA in Vaginalschleim und Cervix durch die Immobilisierung nur den Übergang der Erreger von der Cervix in den Uterus und eine Ansiedlung in der Mukosa des Uterus verhindern (43, 33, 32).

Durch die stark opsonische Wirkung des IgG₁ kommt dann im Uterus noch eine starke Förderung der Phagozytose dazu, so daß die Infektion im Uterus wesentlich früher als im Cervicovaginalbereich beseitigt wird (33).

Im Präputium der Jungbullen können sich nach natürlicher Infektion die Erreger meist nur für begrenzte Zeit halten (49, 57), während bei Bullen über 5 - 6 Jahren die Infektion längere Zeit haftet bzw. sie Dauerträger werden (116, 58, 97). Dies rührt vermutlich daher, daß junge Bullen trotz des örtlichen und oberflächlichen Charakters der Infektion mit C.fetus eine gewisse Immunität auf natürliche Infektion hin entwickeln, die zur spontanen Genesung und zu verminderter

Reinfektionsbereitschaft von einigen Monaten Dauer führt. Bei älteren Bullen im Alter von 5 und mehr Jahren scheint das nicht mehr der Fall zu sein (97, 102, 123). Die höhere Empfänglichkeit und die verminderte Immunität werden auf die höheren Epithellagen der Präputialschleimhaut und die vermehrte Anzahl von Epithelkrypten zurückgeführt (97).

3.3.2. Immunreaktion nach Immunisierung

Die ein- oder mehrmalige subkutane Injektion von lebenden oder inaktivierten Vakzinen führt zu einer Immunität, deren Stärke bei inaktivierten Bakterien vor allem von dem verwendeten Adjuvans abhängt (119). Nach einer Schutzimpfung entstehen humorale Antikörper, die hauptsächlich gegen Vollantigene gerichtet sind (120) und die etwa am 15. Tage nach der Zweitinjektion den höchsten Titer erreichen (20). Die im Serum festgestellten Antikörper gehören überwiegend zu den Gruppen IgM, IgG₁ und IgG₂ (33). Etwa 6 Wochen nach der Vakzination zeigen die geimpften Tiere auch einen positiven Vaginalschleimtiter, der hauptsächlich gegen Vollantigene gerichtet ist (120). Die Antikörper des Cervicovaginalschleims sollen sich ausschließlich aus Globulinen der G-Gruppe zusammensetzen (33, 32). Nach Belastungsinfektionen konnten im Uterus bei parenteral immunisierten Tieren keine histologischen Veränderungen gefunden werden. Es wird nur eine kurzfristige Entzündung festgestellt, die durch mononukleäre und polymorphkernige Zellinfiltration charakterisiert ist. Die im Exsudat des Uterus nachgewiesenen Antikörper gehören der IgG (G₁ u. G₂) - Klasse an und gelangen entweder durch selektiven Transport oder Transsudation aus dem Blutsystem in das Uteruslumen (119, 32). Durch Vakzinierung werden die weiblichen Tiere sensibilisiert, so daß die Immunantwort auf eine Infektion unverzüglich eintritt (63). Angesichts der immobilisierenden und opsonierenden Wirkung des IgG (33) kann sich die Infektion beim vakzinieren Tier nur sehr kurzfristig halten. Die immobilisierten Keime verklumpen und erliegen der Phagozytose. Eine Besiedlung der Uterusschleimhaut wird durch die Wirkung der IgG verhindert (32).

Wenn es trotzdem bei immunisierten oder durchseuchten Tieren gelegentlich zu einer Besiedlung vor allem des Cervikovaginalgebietes kommt, ist dies wahrscheinlich auf eine Variation der Oberflächenantigene des Erregers unter dem Einfluß der Wirtsantikörper zurückzuführen. Die Bakterien vermögen hierdurch die Immunantwort des Wirtes zu umgehen (73, 99). Der Organismus benötigt Zeit, um seine Immunantwort entsprechend zu ändern, und es kann deshalb zu kurz- oder längerfristiger Persistenz der Organismen vor allem im Bereich der Cervix kommen (34). Die Immunitätsdauer nach natürlicher Infektion oder zweimaliger Impfung wird mit 1 - 2 Jahren angegeben (58, 25).

Eine parenterale Immunisierung verhindert beim Bullen das Persistieren einer Infektion bzw. führt zur Eliminierung vorhandener Erreger (23). Nach der Vakzination treten zirkulierende Antikörper im Serum der Tiere auf, wobei diese in geringer Menge ins Präputium diffundieren (107). Der Schutz scheint ein Jahr und länger anzuhalten (23, 29, 13). Trotz unterschiedlicher Höhe der entstehenden Serumantikörpertiter waren alle Bullen gegen eine Infektion geschützt (29). Es wurde festgestellt, daß durch die Vakzination die passive Übertragung der Infektion durch den Bullen beim Deckakt erheblich eingeschränkt oder fast ganz verhindert wird, da zur Infektion weiblicher Tiere eine bestimmte Anzahl lebensfähiger Keime nötig ist (30).

3.3.3. Herstellung von Campylobakter fetus-Impfstoffen

3.3.3.1. Impfstämme

Die zur Impfstoffproduktion benutzten Stämme wurden teils aus abortierten Feten (119, 90, 56, 55, 93), teils aus Präputialspülproben infizierter Bullen (13), oder aus Cervikalschleimproben von Rindern isoliert (100, 83). Einige Autoren haben zwischen Stämmen mit hoher Virulenz und weniger virulenten unterschieden, um den Einfluß der Virulenz auf die Immunität zu prüfen. Weniger virulente

Stämme sollen danach eine bessere Schutzwirkung hervor-
rufen (31). Soweit eine genaue Typenbestimmung erfolgte,
sind Impfstoffe aus Stämmen vom Serotyp A (8) oder O₁ (78),
mit Biotyp A-1 (44, 82, 119, 63, 100), A sub 1 (63) oder
A-2 (13, 119) hergestellt worden. Clark (24) vermutete, daß
C.fetus intestinalis-Stämme vom Serotyp B als Impfstoff-
grundlage den A-1 Stämmen überlegen sein könnten. Dies
konnte von Wilkie und Winter (119) nicht bestätigt werden.
Es ließ sich jedoch mit Impfstoffen vom Serotyp B / O₂ eine
gewisse Immunität gegen Serotyp A / O₁ erzeugen (54, 24, 31).
Nach Berg (8) ist die Stärke der Immunität, die durch Stämme
jeder Varietät erreicht wird, mit ihrer Antigenverwandtschaft
zum infizierenden (belastenden) Stamm verbunden.
Es ist noch nicht geklärt, welche der Antigenkomponenten
(Körper-, Oberflächen- oder Kapselantigene) in welchem Maße
die Ausbildung der Immunantwort bewirken (8). Berg und
Firehammer (9) fanden beim Schaf, daß die Applikation von
Vollantigenen einen guten Schutz bewirkte. Bei den Versuchen
schützte eine Typ C - Vakzine zwar gegen homologe, aber nicht
gegen A₂ - Testinfektion, und A₂- Vakzine nicht gegen Typ C.
Mischvakzine A₂ + C schützte gegen beide homologen Stämme,
aber nicht gegen Typ B.
Trotzdem scheinen die antigenen Wirkungen an die hitze-
empfindlichen Antigene gebunden zu sein, denn bei Anwendung
von gekochten Bakterien als Impfstoff waren die Tiere auch
gegen den homologen Stamm nicht geschützt. Auf 65°C 30 Min.
erwärmte Suspensionen waren dagegen noch wirksam. Geißel-
antigene werden bei diesen Temperaturen schon inaktiviert,
so daß Berg (8) es für möglich hielt, die Oberflächen- oder
Kapselantigene seien die hauptsächlich immunitätserzeugenden
Antigene. Clark (31), der mit B-Vakzinen beim Rind einen
Schutz gegen A-Infektion erzielte, führt das Ergebnis auf
gemeinsame hitzelabile Antigene zurück. Gemeinsame hitze-
labile Antigenfaktoren fand bei den Typen A und B auch
Berg (8). Bouters (112) erzielte dagegen besonders gute
Erfolge mit bullenspezifischen Vakzinestämmen.

3.3.3.2. Züchtung

Mehrere Autoren führen vor der Impfstoffproduktion den Stamm über eine Tierpassage (90, 56, 51, 54, 22, 58), um die Pathogenität des Stammes zu erhöhen bzw. aufzufrischen (81, 117). Die Züchtung erfolgt sowohl auf festen - (90, 56, 51, 22, 54, 20, 58, 119, 26, 13, 100) als auch auf Flüssignährböden (44, 82, 63, 26, 28, 29, 93), wobei letztere zur industriellen Produktion geeigneter sind (26). Als Nährboden wurden Brucella Broth (54, 55), Lemco-broth (20, 22), Fleischbrühe mit verschiedenen Zusätzen (44, 82, 63), Blutagar (51, 100) und Albimi Agar (119) benutzt. Zwischen den auf Fest- und in Flüssigkultur gezüchteten Bakterien besteht kein immunologischer Unterschied (26). Optimales Wachstum der Kulturen hängt von Biotyp (13), Nährboden, Temperatur und vom zur Bebrütung verwendeten Gasgemisch ab (26). Um eine bessere Ausbeute zu erhalten, wurde die Luftzusammensetzung des Kulturraumes verändert. Hauptsächlich wurde der CO_2 -Gehalt erhöht und der Sauerstoffgehalt verringert (26, 71, 16) oder gänzlich beseitigt (54).

3.3.4. Lebendimpfstoffe

Die ersten Impfstoffe, die gegen C.fetus-Infektion entwickelt wurden, waren Lebendimpfstoffe. Während Osborne (85) mit der subkutanen Verimpfung einer durch Eipassagen abgeschwächten C.fetus Suspension kaum eine Schutzwirkung erzielen konnte, erreichten andere Untersucher mit Lebendvakzinen meist gute Erfolge (92, 54, 55, 93, 21, 51). Die Vakzinekulturen wurden auf Fest- oder Flüssignährboden gezüchtet, auf eine bestimmte Dichte eingestellt und subkutan verimpft. Der Nachteil der Lebendvakzinen lag in einer kurzfristigen Haltbarkeit und der Notwendigkeit einer sehr hohen Zellzahl (51).

3.3.5. Impfstoffe aus inaktivierten Erregern

C.fetus Impfstoffe werden gegenwärtig aus Erregern hergestellt, die mit chemischen Mitteln inaktiviert wurden. Es wird meist Formalin in möglichst niedriger Konzentration verwendet (90, 56, 44, 82, 51, 58, 119, 63, 26, 13, 100, 54). Neben Formalin dient vor allem Phenol zur Inaktivierung (22, 26, 27, 28, 21). Vereinzelt wurden physikalische Methoden zur Inaktivierung wie Erwärmen oder wechselndes Einfrieren und Auftauen versucht (55, 100). Hörlein und Kramer konnten keinen Einfluß der Art der Inaktivierung auf die Immunogenität der Vakzine feststellen (55).

3.3.6. Adjuvantien

Die meisten Autoren haben für C.fetus-Impfstoffe Mineralöl als Adjuvans verwendet. In zahlreichen Untersuchungen wird ihm eine gute Wirksamkeit zugeschrieben (90, 56, 44, 82, 51, 22, 119, 26, 27, 13, 29). Die Emulsionen haben aber den Nachteil, daß sie bei Kälte sehr zähflüssig und schwer injizierbar sind (55). Zur Gruppe der öligen Adjuvantien zählen auch das komplette und das inkomplette Freund'sche Adjuvans. C.fetus Impfstoffe, die mit komplettem Freund'schem Adjuvans hergestellt wurden, bewirkten eine vollständige Immunität gegen die Infektion, was vermutlich auf die hohe Wirksamkeit dieses Adjuvans bei der Stimulierung der humoralen Immunität zurückzuführen ist (119). Durch Zusatz von inkomplettem F.Adjuvans konnte Bouters (13) bei der Vakzinierung von Bullen vollständige Immunität erreichen, während dies Schurig (100) bei Rindern nicht gelang. Aluminium-Hydroxyd, das ebenfalls verwendet wird (119, 63) scheint etwas weniger wirksam als Freund'sches Adjuvans zu sein (59), ist aber für Schafe besser verträglich und beeinträchtigt die Injizierbarkeit der Impfstoffe nicht.

3.3.7. Wirksamkeitsprüfung bei Campylobakter fetus- Impfstoffen

Die natürlichste Methode des Wirksamkeitsnachweises bei C.fetus-Impfstoffen ist die Ermittlung der Trächtigkeitsrate in infiziertem Milieu bei geimpften Tieren im Vergleich zu der von nicht geimpften Tieren (54, 55, 20, 90, 56, 44, 82, 63, 6, 7, 26), bzw. die Abkalbung oder der Deckindex nach natürlicher oder künstlicher Infektion. Die Abkalbrate vakzinierter, infizierter Herden war meist der gesunder, nicht infizierter Herden gleich, während sie im Vergleich dazu bei infizierten, nicht vakzinierten Herden deutlich vermindert war. Als weiteres Kriterium wurde das Haften einer Testinfektion im Cervikovaginalgebiet herangezogen (100, 26, 119, 58, 22, 51), wobei zu beachten ist, daß eine Cervikalinfection Trächtigkeit nicht ausschließt. Beim Bullen wurde die Wirksamkeit einer Vakzine dadurch geprüft, ob sie eine Infektion des Präputialsackes verhindern konnte (13, 29, 23). Die Testinfektion erfolgte entweder auf natürliche Weise (13) oder durch das Einbringen von 2 - 4 ml Kultur mit mindestens $1,5 - 3 \times 10^8$ lebenden Zellen in den Präputialsack (29). Jüngere Bullen mußten 2 - 3 mal infiziert werden, und das Haften wurde durch g g f. mehrere wöchentlich entnommene Spülproben geprüft (29).

Das Haften einer Testinfektion als Maßstab des Impferfolges erfaßt die gesamte Immunantwort des geimpften Tieres, auch wenn nicht alle Einzelheiten ihrer Entstehung bekannt sind (8). Haftet die Infektion mehr als 10 Tage, wird das Tier als nicht immun bewertet (35). Einzelne titrierbare Antikörperreaktionen wie der Agglutinations- bzw. KBR-Titer im Blutserum oder der Agglutinationstiter im Vaginalschleim können in gewissen Grenzen zum Vergleich der Wirksamkeit verschiedener Impfstoffe herangezogen werden (64, 19). Die Mukoagglutination dient auch zum Nachweis einer Infektion oder des Haftens einer Testinfektion im Cerviko-Vaginalraum (89, 64, 19, 46, 4, 60, 80).

3.3.8. Passive Immunisierung

Wilkie et al (120) berichten, daß die passive Immunisierung eines Rindes durch intravenöse Injektion von 7 l Serum den sofortigen Anstieg des Serumantikörper-Titers und des Vaginalschleimagglutinationstiters bewirkte. Versuche von Berg et al (10) zeigen, daß durch die Übertragung von Serum-Antikörpern ein Schutz gegen die Infektion erreicht werden kann.

3.3.9. Impfschäden

C.fetus besitzt wie die meisten gramnegativen Bakterien Endotoxine, so daß bei intravenöser Applikation der Bakterien die Gefahr des Endotoxinschocks bestehen kann (122, 85). Bei der subkutanen Applikation von Lebend- oder von Totvakzinen wurden in keinem Fall Unverträglichkeitsercheinungen bei geimpften Tieren beobachtet. An der Impfstelle bildeten sich sowohl bei der Applikation von Lebendimpfstoff (20), als auch inaktivierter, mit Adjuvans versetzter Vakzine (21, 77, 56, 51, 22, 26, 27) harte, nicht entzündliche, aus Epitheloidzellen und Bindegewebe bestehende Schwellungen, die je nach Adjuvans eine Größe bis zu 10 cm Länge erreichten. Sie bildeten sich nur langsam zurück und waren teilweise noch zwei Jahre nach der Injektion nachweisbar (22). Mineralöladjuvantien allein subkutan verabreicht verursachten eine Schwellung von nur 3 cm Durchmesser. Wirtschaftlich kommt den Schwellungen keine Bedeutung zu (22).

Tabelle 2 :
Übersicht über die Impfmethoden und ihre Ergebnisse

Nr.	Jahr d. Ver- öff.	Autor	Lit. Verz. Nr.	Versuchs- tiere	Impf- stamm	Technische Daten der Impfstoffherstellung Inaktivierung Adjuvantien	Anwen- dung, Dosis	Prüfung der Immunität	Impferfolg
1	1951	Plastridge	90	weibl. Rinder	V.fetus	Formalin keine	sc. 3x5 ml	natürliche Exposition	kein Erfolg.
2	1962	Te Punga	110	"	"	Formalin	sc. u. intra- vaginal	"	erhöhte Trächtigkeit der Vakzinier- ten i. Vergleich zu den Kontrollen. sc. Applikation besser als intra- vaginal
3	1964	Te Punga	111	"	"	Formalin Öl	sc.	"	erhöhte Trächtigkeit im Vergleich zu den Kontroll- tieren
4	1964	Hörlein	55	"	V.fetus von 2 abort. Feten	I Formalin 0,15 % II Phenol 1 % Lanolin u. III Erhitzung Paraffin IV Einfrieren u. Auftauen	1 od. 2x 5 ml sc.	intrauterine In- fektion mit C.f. Kultur zur Zeit der K.B.	80-100% Trächtigkeit der geimpften Tiere/ Kontrollen: 10 % Trächtigkeit
5	1965	Hörlein Caroll	56	"	"	Formalin 0,15 % Lanolin u. Paraffin	1 od. 2x 5 ml sc.	Feldversuch (nat. Exposition)	Kaum mehr Erreger- isolation aus dem Cervikalschleim
								Vacc: 100% Trächtigg. od. 64% " Kontrolle: 50% Trächtigg. od. 35% " je nach Schwere der Infektion	

Nr/eröff Jahr	Autor	Nr./Lit. Verz. tiere	Versuchs- tiere	Impf- stamm	Techn.Daten der Impfstoffh. Inaktivierung Adjuvantien	Anw. Dosis	Prüfung der Immunität	Impferfo:g
6 1966	Fire- hammer	44	weibl. Rinder	Kombina- tionsvak- zine aus 3 V.f.- Isolaten	Formalin Min.-Öl	2 x sc.	Impfung infiz. Tiere	Vacc.: 91,5% Trächtigt. Kontr: 45,5% Trächtigt.
7 1966	Newhall	82	weibl. Rinder	"	Formalin Min.-Öl	2 x sc.	Feldversuch	Vacc.: 91,5% trächtigt Kontr: 44,5% trächtigt 2x vakz.besser als 1x vakziniert Kombinationsvakz. besser Vacc.: 100% trächtigt Kontr: 70% trächtigt (verzög.Konzeption)
8 1967	Frank Bryner	51	"	V.f.ven. hoch virulent V.f.ven. schwach virulent	Formalin Al-OH Min.-Öl	sc. 5 ml sc. 4 ml	Decken mit .durch den homologen Stamm infizierten Bullen	Vakzinierung zeigte gute Wirkung. Aus weniger viru- lentem Stamm her- gestellte Vakzine bessere Wirkung
9 1967	Clark	22	"	V.fetus Stamm B6 (ven)	Phenol 1% inkompl. Freund. Adjuvans	sc. 2x 5 ml	Intracervicale Infektion mit homologem Stamm	Vakz.Immunität ≥ Konv.Immunität
10 1968	Clark	20	"	"	Phenol 1% Min.-Öl	sc. 2x 5 ml	Decken mit infiz. Bullen und homologe Kultur intracervikal Serum AK-Titer- bestimmung	Schutzdauer 15 Mon Vakz.Tiere: 67% Schutz Dauer des Vakz.- Schutzes: 15 Mon KBR : Ø 1 : 1280 Aggl: Ø 1 : 640

Nr	Veröff. Jahr	Autor	Nr. lit. Verz. Tiere	Versuchs- tiere	Impf- stamm	Techn. Daten d. Impfstoffherst. Inaktivierung Adjuvantien	Anw. Dosis	Prüfung der Immunität	Impferfolg
11	1968	Clark	23	Bullen	V.fetus Stamm B6 (ven)	Phenol/Form. Min.-öl	sc. 2x 5 ml	1. aktiver Schutz- versuch 2. nach 6 Monaten Präputialinfekt.	1. nach Vakzination Infektion nicht mehr nachweisbar 2. keiner der Bullen in- fizierte sich
12	1968	Mitchell	77	weibl. Kinder	V.fetus Feld- stamm	Formalin Kommerz. Vakzine	sc. 2 ml	Vaginalschleim- Antikörpertiter	kein Unterschied zwischen infiz. Kontrolltieren u. sich infizierten vakzinieren Tieren
13	1970	Hörlein	58	"	V.f.aus abort. Feten	Formalin Industriell hergestellte Vakzine	sc. 1 od. 2 mal 5 ml	Decken mit infiz. Bullen	Vakz: 91% Konzeption jährliche Vakz. angeraten 31% der Vakz. Tiere Cervikalträger der Infektion
14	1970	Clark	24	"	V.f. Stamm A 28 (Serotyp B)	Phenol Inkomplett. Freund. Adjuvans	sc. 5 ml	Passiver Schutz- versuch	11 von 12 vakz. Tieren vor der Infektion ge- schützt
15	1971	Wilkie Winter	119	"	I V.f. ven II V.f. int. OI	Formalin 0,3% Komplettes Freund. Adjuvans	sc. 8 ml auf 4 versch. Stellen verteilt	1. Cerviko vag. Instillation homologer V.f.Kultur 2. Serum AK. Be- stimmung	1. Vakzine schützt vor Genitalin- fektion durch hom. Stämme 2. Aggl.Titer geg.a) W.AG.1: 28000 b) O.AG.1: 1300

Nr	Veröff Jahr	Autoren	Nr. lit. Verz.	Versuchs- tiere	Impf- stamm	Techn. Daten d. Impfstoffherst. Inaktivierung Adjuvantien	Anw. Dosis	Prüfung der Immunität	Impferfolg
16	1971	Kendrick Williams	63	weibl. Rinder	Kombinat. vakz. aus 3 v.f. ven. Stämmen	Formalin AL-OH Gel 0,4 %	sc. 2x 2ml	Decken mit infiz. Bullen	Trächtigkeit nach 164 Tagen: Vakz.: 79 von 99 Kontr.: 62 von 99
17	1971	Allan	6	"		Industrielle Vakzine	sc. 2 x	Feldversuch	Konzeption: 76% Vakz. 50% Kontr.
18	1972	Allan	7	weibl. u. männl. Rinder		Industrielle Vakzine	sc. 2 ml	Feldversuch	Vakz. weibl. Tiere: Erfolg Vakz. von Bullen: kein Erfolg
19	1972	Clark	26	weibl. Rinder	V.f. Stamm B 6	gezüchtet: Flüssig- Fest- nährboden Phenol Min.-öl	sc. 2x 5ml	Homologe Kultur intracerv. vor erster Be- deckung	Kein Immunitäts- unterschied zw. den beiden Vakzinen. Vorschlag: Biannuale Vakzination
20	1972	Clark	27	weibl. Jährlinge und Kälber	"	Phenol/Formalin Min.-öl	sc. 2x 5ml	"	Opt. Vakzinations- zeitpunkt 2 x 2 Mon vor der ersten Bedeckung
21	1972	Clark Fitz- Patrick	28	weibl. Rinder	"	Phenol/Formalin Min.-öl	sc. 2x 5ml	Feldversuch	Vakz.: a) 2/3 der empf. Tiere geschützt b) Verkürzung der Zwischen- kalbezeit

Fortsetzung von Tabelle 2:

Nr	Veröff Jahr	Autor	NrLit. Verz.	Versuchs- tiere	Impf- stamm	Techn.Daten d.Impfstoffherst Inaktivierung Adjuvantien	Anw. Dosis	Prüfung der Immunität	Impferfolg
22	1973	Bouters	13	Bullen	V.f.int. O1	Formalin 0,2% inkompl. Freund. Adjuvans	sc. kurativ. 2x 5 ml proph: 1x 5 ml	aktiver Schutz- versuch Feldversuch	nach der 2.In- jektion kein Bulle mehr infiziert kein Bulle in- fizierte sich
23	1974	Clark Dufty	29	"	V.f. Stamm B6	Phenol/Formalin Min.-öl	sc. 2x 5 ml	1.Präputialinfekt mit homol.Stamm 2.Serum AK-Titer	1.keiner der vakz. Bullen infizier- te sich 2.Aggl.AK: bis 1:10240 ø 640
24	1975	Clark	31	weibl. Rinder	V.f.St. B6 V.f.St. A 28	Phenol/Formalin Phenol inkompl. F.Adjuv.	sc. 2x 5 ml sc. 2x 5 ml	aktiver Schutz- versuch	i.a.schützt die Vakzine vom Sero- typ B ebenfalls gut. Serotyp A Vakzinen aber vermutlich sicherer u. vorteilhafter
25	1975	Scharig	100	"	C.f.ven. St.1016	Wechselndes Einfrieren u.Auftauen	sc. 2x 5 ml	Cervik.Instill. des hom.Stammes	6 von 8 Tieren zeigen keine vaginale Infektion
26	1976	Bouters De Keyser	14	"	V.f.ven.	Wechselndes Einfrieren u.Auftauen	sc. 1x 2 ml	Decken mit infizierten Bullen	Vakzinierte Tiere haben Deckindex von 2,1/ Trächtigkeit Kontrollen 4,0/ Trächtigkeit

C EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchstiere

Für die Versuche wurden Mastbullen, die überwiegend der Rasse Deutsches Fleckvieh und Deutsches Braunvieh angehörten, im Alter zwischen 12 und 18 Monaten verwendet, wie sie in verschiedenen Betrieben Oberschwabens standen. Die Aufstallung und Fütterung variierten in den einzelnen Betrieben. Als Kontrolltiere dienten gleichaltrige Tiere in den gleichen Betrieben, die unter den selben äußeren Bedingungen lebten.

2. Herstellung des Impfstoffes

2.1. Impfstamm

Zur Herstellung des Impfstoffes wurde der C.fetus Stamm D 177/4 - 76 benutzt, der bei der Campylobakter-Diagnostik des hiesigen Institutes am 11.5.76 aus der Präputialspülprobe eines Deckbullen isoliert wurde.

Der Stamm wurde in Thioglykolat-Bouillon gehalten und alle 8 Wochen durch Überimpfen auf Brillantgrün-Blutagar kontrolliert. Nach 4 Tagen mikroaerophiler Bebrütung bei 37°C bildete er dort runde, ca 0,8 - 1 mm große, voneinander abgesetzte, farblose bis leicht cremefarbene Kolonien, die nach längerer Bebrütung schleimig wurden.

Im Phasenkontrastmikroskop zeigten die Keime die für C.fetus typische Gestalt, meist S - bis Doppel-S-förmige, sehr bewegliche Stäbchen.

Der Stamm D 177/4 - 76 wuchs gut auf T-u. B-Platten bei einer Atmosphäre von 5 % O₂, 5 % CO₂ u. 90 % N₂, ebenso in Thioglykolat- und Leber- Leber-Bouillon. Er zeichnete sich durch mikroaerophiles Wachstum aus, war katalase-positiv, H₂S-negativ, bildete H₂S in Cystinbouillon, tolerierte 1,3 % Glycin und 6 % Galle. Bei der Temperaturdifferenzierung zeigte er bei 25°C Wachstum, wuchs aber nicht bei 45°C. Die serologische Typbestimmung in der KBR nach Mitscherlich

und Liess (78) ergab Serotyp 01. Auf Grund dieser Merkmale ist der Stamm dem C.fetus-Typ A - 2 zuzuordnen (8) oder als C.fetus intestinalis 01 (47) bzw. Serotyp 01 - Biotyp intestinalis zu bezeichnen.

Im Übertragungsversuch auf Färsen haftete der Stamm weniger als 10 Tage im Cervixbereich und erwies sich damit als venerisch nicht pathogen (94).

Wir verwendeten einen A - 2 Stamm, da nach Bouters (13) diese Stämme diesselben Antigene wie C.fetus ven. besitzen sollen, aber schneller und reichlicher auf Kulturmedien wachsen.

2.2. Züchtung

Die Produktion der zur Impfstoffherstellung benutzten Bakterienmasse erfolgte in Kolleschalen auf Tryptoseagar mit 7,5 % Rinderblut. Die Beimpfung des Nährbodens geschah mit einer 4 Tage alten, gut bewachsenen, geprüft reinen Kultur des Stammes in Thioglykolat. Ca 2 ml der Kultur wurden gleichmäßig auf der Oberfläche des Nährbodens ausgespatelt. Danach wurden die Schalen in sterilen, verschlossenen Metallgefäßen in einem durch gesättigte CuSO_4 - Lösung geleiteten Gasgemisch von 5 % O_2 , 5 % CO_2 , 90 % N_2 96 Std lang bei 37°C bebrütet. Zur Kontrolle auf Fremdkeime wurde das Wachstum jeder Flasche mikroskopisch und kulturell untersucht.

Bei 3 Impfstoffchargen aus jeweils 4 Kolleschalen ergab sich im Durchschnitt je Schale eine Ausbeute von 5,2 ml Bakterien-suspension von 11 x der Dichte des Wellcome Dichte-Röhrchens Nr. 10.

Mit Zweiphasen-Nährboden (Blutagar mit Thioglykolat-Bouillon überschichtet) erzielt man besonders bei A - 1 - Stämmen bessere Ausbeuten. Ein Overlay ist allerdings empfindlich gegen Verunreinigungen.

2.3. Dichteeinstellung und Bestimmung der Zellzahl

Die Bestimmung der Zellzahl der Bakteriensuspension erfolgte nach dem Koch'schen - Plattenzählverfahren. Dazu wurden zwei Schalen mit physiologischer NaCl-Lösung abgeschwemmt und bei 3000 U/min 30 min lang zentrifugiert. Der Bodensatz eines jeden Zentrifugenglases wurde mit Kochsalzlösung abgeschwemmt und auf die Dichte des Wellcome Dichte-Röhrchens Nr.10 eingestellt. Diese Suspension wurde durch Abschleudern und Wiederaufschwemmen im 11.Teil der zur obigen Einstellung benutzten Lösungsmenge konzentriert. Die Suspension wurde nun in Zehner-Potenzen in Thiol-Spülflüssigkeit verdünnt und von jeder Stufe auf 4 Tryptose-Blutagar-Platten je 0,1 ml verdünnte Suspension ausgespatelt. Der Endpunkt wurde nach dem Mittelwert der Koloniezahlen auf den 4 Nährböden bestimmt. Die Zählung ergab eine mittlere Dichte von $7,5 \times 10^{12}$ koloniebildende Einheiten / ml Bakteriensuspension.

Daneben wurde durch Zentrifugieren das Naßgewicht der Bakterienmasse von 1,0462 g / 5 ml Vakzine und durch Gefriertrocknung deren Trockensubstanzgewicht von ca 50 mg / 5 ml Vakzine ermittelt.

2.4. Inaktivierung

Nach der Reinheitskontrolle wurde jede Schale abgeschwemmt und wie oben auf 11 mal die Dichte des Wellcome-Dichte-Röhrchens Nr.10 eingestellt. Als Lösungsmittel wurde hierbei aber jeweils physiologische NaCl-Lösung verwendet, der 0,2 % Formalin zugesetzt wurde. Nach 24 stündiger Aufbewahrung im Kühlschrank wurde die Suspension auf Absterben der Zellen und Freisein von Fremdkeimen geprüft. Das Absterben der Zellen wurde durch Ausstreichen von 0,1 ml Bakteriensuspension auf eine Thioglykolatagar - Blutplatte und 4 tägige Bebrütung, das Freisein von Fremdkeimen durch Ausstreichen von jeweils 0,1 ml Suspension auf jeweils eine Blut-, Agar- und Gassner - Platte, sowie das Abimpfen von 3 Tropfen der Suspension in halbfeste Thioglykolat-Bouillon, wobei diese mit Paraffin überschichtet wurde, geprüft.

2.5. Zubereitung der Vakzine

Zur Fertigstellung der Vakzine wurden Bakteriensuspension und inkomplettes Freund'sches Adjuvans zu gleichen Teilen im Homogenisator gemischt. Der gewonnene Impfstoff wird nach Zusatz des Adjuvans sehr dickflüssig, ist bei Kälte sehr zähflüssig und deshalb im Gebrauch schwierig. Er läßt sich schlecht in Injektionskanülen aufziehen. Auch ergeben sich Verluste durch das Haften von Impfstoff am Rand des Aufbewahrungsbehälters.

Als Vergleichsimpfstoff wurde parallel zu dem selbst hergestellten Impfstoff eine industriell hergestellte Serovakzine⁺ verwendet. Ihre Zellzahl ist vom Hersteller mit 2×10^9 / ml angegeben, der verwendete Typ mit "Vibrio fetus" nicht näher beschrieben. Zum Inaktivieren sind 0,3 % Formalin und als Adjuvans "Alu-Gel" zugesetzt. Außerdem ist Normalserum zugefügt. Die Vakzine wird deshalb als Serovakzine bezeichnet.

3. Immunisierungsmodus

Für den Bullenschutzversuch wurden 16 Bullen mit jeweils 5 ml der frisch hergestellten Vakzine 2 x im Abstand von 4 Wochen subkutan in den Triel geimpft. Weitere 15 Bullen wurden mit jeweils 10 ml der industriell hergestellten Vakzine 2 bzw. 3 mal im Abstand von 14 Tagen auf die gleiche Weise behandelt. Vier weitere Bullen wurden 2 mal im Abstand von 4 Wochen mit jeweils 5 ml inkomplettem Freund'schem Adjuvans ohne Antigen geimpft.

4. Prüfung auf Unschädlichkeit

Von dem Impfstoff wurden je 0,5 ml 3 weißen Mäusen subkutan appliziert. 0,3 ml des Impfstoffes (ohne Adjuvans) wurden 3 weißen Mäusen intraperitoneal verabreicht. Sodann wurden jeweils 5 ml des Impfstoffes subkutan in den Triel von fünf Mastbullen im Alter von 14 Monaten injiziert.

+ Laboratoires Decaris, 11, Rue de Bérulle, 94160 Saint.-Mandé

5. Prüfung auf Immunogenität

Die Schutzversuche wurden in Anlehnung an die Versuche von Clark (29) durchgeführt.

5.1. Aktiver Schutzversuch beim Bullen

Vier Wochen nach der letzten Vakzinierung wurde die Immunität der geimpften Bullen dadurch geprüft, daß ihnen und 12 nicht vakzinierten Kontrollbullen 2 x im Abstand von 8 Tagen 7 ml einer Infektionskultur in den hinteren Abschnitt des Präputialschlauches appliziert und leicht einmassiert wurden. Zur Infektion der Versuchsbullen wurde ein Gemisch der *C.fetus venerealis* Stämme D 500, D 532 und VB 242 verwendet, die erst vor kurzem aus dem Untersuchungsmaterial des STUA Aulendorf isoliert wurden und aus abortierten Feten (D 532 und VB 242) oder aus der Präputialspülprobe eines Bullen (D 500) aus einem stark verseuchten Deckring stammten. Sämtliche Stämme ließen sich dem Typ A - 1 (8) bzw. dem Serotyp 01 (78) Biotyp *venerealis* zuordnen. Die Stämme wurden in Leber - Leber Bouillon nach Tarozzi, der 0,5 ml Schweineserum zugefügt wurde, durch 4 tägige Bebrütung bei 37°C angezüchtet und vor der Applikation auf Dichte und Reinheit untersucht. Die zur Infektion verwendeten Kulturen enthielten 3 bis $3,8 \times 10^8$ lebende Keime / ml.

10 Tage nach der Zweitinfektion wurde bei jedem der Bullen eine Präputialspülprobe entnommen und die Spülung nach 8 Tagen wiederholt. Zur Präputialspülung wurden 90 ml einer Thioglykolatbouillon nach Bisping verwendet. Die Spülproben wurden bei 1000 U/min 5 - 10 min lang zentrifugiert und von dem Überstand ca 0,06 ml auf Brilliantgrün-Nährböden nach Florent ausgestrichen. Danach wurden ca 8 ml des Überstandes durch einen Filter mit der Porenweite $0,65 \mu\text{g}$ (MF Millipore-Filter Kat.Nr. DAWP 2500) filtriert und auf Thioglykolat-Nährboden mit 10 % Rinderblutzusatz ausgestrichen. Nach 96 Stunden mikroaerophiler Bebrütung wurde vorhandenes Plattenwachstum makroskopisch und mikroskopisch untersucht und gegebenenfalls bei Verdacht eine Differenzierung auf *C.fetus* durchgeführt. Wenn bei keiner der beiden Spülproben,

die eingebrachten Testkeime isoliert werden konnten, wurde die Infektion als erfolglos und das Tier als immun angesehen.

5.2. Antikörpernachweis

Vor der Vakzination und vor der Belastung wurde jedem Bullen jeweils eine Blutprobe entnommen. Den Kontrollbullen wurde vor der Infektion und 20 Tage danach jeweils eine Blutprobe entnommen. Das Serum der Proben wurde abzentrifugiert und bei -20°C im Gefrierschrank aufbewahrt.

5.2.1. Komplementbindungsreaktion

Die Blutproben wurden mittels der Komplementbindungsreaktion nach Mitscherlich und Liess (78) untersucht. Die Phenolextrakte wurden nach den dortigen Angaben hergestellt, aber der Ansatz der Proben entsprechend der im STUA Aulendorf üblichen Technik etwas modifiziert (Antigen 1 : 60 - 1 : 80, Komplement 4 %, 2,5 % Hammelblut 15 min bei 37°C im Wasserbad sensibilisiert mit Ambozeptor in 3-facher Titermenge, zu untersuchende Seren inaktiviert und abgestuft von 1 : 5 - 1 : 640 verdünnt). Von den Komponenten wurden je 0,1 ml, von dem sensibilisierten hämolytischen System 0,2 ml verwendet. Zur Bindung standen die Gemische 30 min, zum Lösen 10 - 20 min bzw. bis zum Lösen der Kontrollen im 37°C Wasserbad. Als positiv wurde eine Hämolysehemmung von 50 % und darüber bewertet.

5.2.2. Blutserumagglutination

Daneben wurden die Blutproben auch mittels der Agglutinationsreaktion untersucht. Das Agglutinationsantigen wurde nach den Angaben von Berg (8) hergestellt: Abschwemmung der in Kolleschalen gewachsenen Bakterienkultur mit 0,85 % iger NaCl-Lösung. Zweimaliges Waschen der Kultur. Danach wurde die Kultur mit 0,3 % Formalin versetzt und 12 Std bebrütet. Sodann wurde das Gemisch abzentrifugiert und der Bodensatz in Veronalpuffer auf eine OD. von 0,8 bei 700 nm im Spektrometer eingestellt. Die Seren wurden inaktiviert und

abgestuft verdünnt (1 : 5 - 1 : 5120). Zu 0,1 ml Serum einer jeden Verdünnungsstufe wurde auf dem Objektträger 0,1 ml Antigen gegeben und die Reaktion unter dem Agglutinoskop abgelesen.

5.3. Feldversuche

Insgesamt wurden 14 im natürlichen Sprung eingesetzte Bullen, die an 5 verschiedenen Orten Südwürttemberg's in infizierter Umgebung standen, 2 mal im Abstand von 4 Wochen mit jeweils 5 ml der hier hergestellten Vakzine subkutan in den Trier geimpft. Die Bullen waren im Alter zwischen 2,5 und 9 Jahren. 9 der vakzinierten Bullen waren auf Grund von Präputialspülproben als "Vibrionen"träger festgestellt worden. Die anderen 5 Bullen waren hochgradig ansteckungsverdächtig, doch konnte bei den Spülproben C.fetus nicht festgestellt werden. Die Fruchtbarkeit in den infizierten Deckringen war - bestandsweise unterschiedlich - gering bis hochgradig gestört. Zur Kontrolle des Impferfolges bzw. der Immunität wurden den Bullen 4 Wochen nach der zweiten Vakzination 3 Präputialspülproben im Abstand von jeweils 1 Woche entnommen. Einmal wurde vor der Präputialspülung eine Präputialschleimprobe (40) entnommen. Die Spülproben wurden wie die der Versuchsbullen auf C.fetus ven. untersucht. Vier Monate nach der letzten Impfung und nach laufendem Einsatz im natürlichen Sprung im infizierten Deckring, wurde den Bullen nochmals 2 x im Abstand von 8 Tagen eine Präputialspülprobe zur Untersuchung auf Reinfektion entnommen. Solange die im infizierten Deckring eingesetzten Bullen bei wiederholten Spülproben negativ bleiben, kann man annehmen, daß eventuelle Infektionen nicht haften und der Bulle die Infektion nicht weiter verbreitet. Die Schutzimpfung hätte dann die gewünschte Wirkung gezeigt.

II ERGEBNISSE

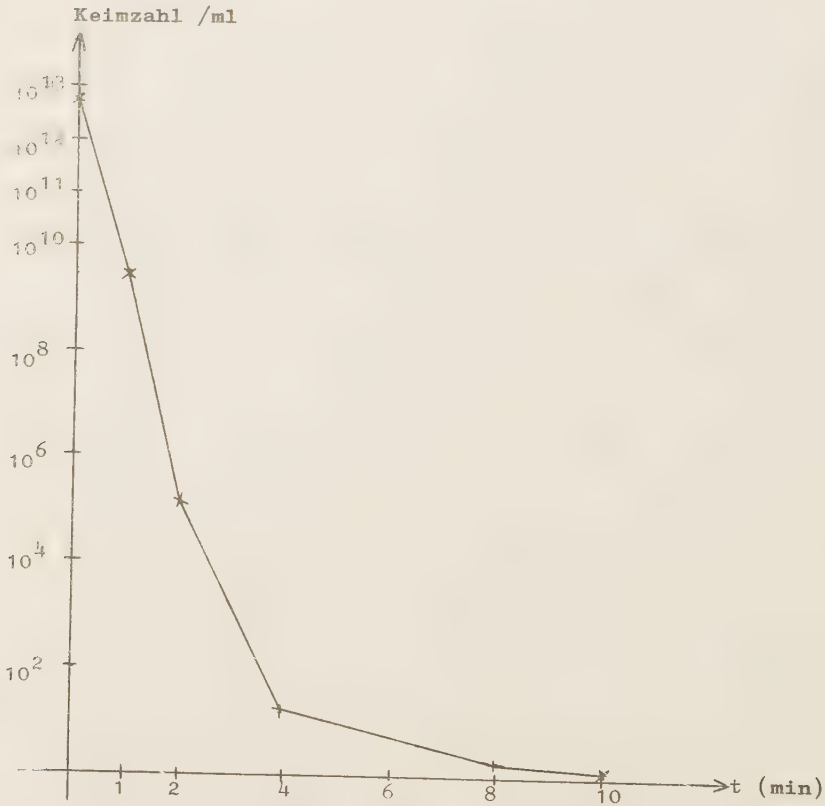
1. Kinetik der Formalininaktivierung

Zur Bestimmung der Inaktivierungskurve durch den Zusatz von 0,2 % Formalin, wurde die Bakteriensuspension jeweils in Zehnerpotenzen abgestuft verdünnt. Danach wurden zu jeder Verdünnung 0,2 % Formalin hinzugegeben und das Formalin zu einem bestimmten Zeitpunkt durch eine äquivalente Menge NaHSO_3 neutralisiert. Sodann wurden 0,1 ml einer jeden Verdünnungsstufe auf 2 Thioglykolat-Agar-Blutplatten ausgestrichen und die Platten in Metallgefäßen unter mikroaeroben Bedingungen 4 Tage lang bei 37°C bebrütet. Als Grundlage für die Errechnung der Inaktivierungskurve dienten die Ergebnisse aus 3 Einzelversuchen. Bei den einzelnen Versuchen traten geringgradige Schwankungen im Ergebnis auf.

Abb.: 3

Inaktivierungskurve

Zeit (min)	0	1	2	4	8	10
Zellzahl pro ml	$7,5 \times 10^{12}$	$4,5 \times 10^9$	2×10^5	2×10^1	$< 10^1$	geg. 0



2. Ergebnis der Prüfung auf Unschädlichkeit

Die Unschädlichkeit der Impfstoffe wurde an weißen Mäusen bei subkutaner und intraperitonealer Applikation geprüft. Nach subkutaner Applikation des Impfstoffes traten an der Impfstelle ca erbsengroße Verdickungen auf, welche die Tiere in ihrem Allgemeinbefinden nicht störten. Haarausfall oder Abszedierung wurden an der Impfstelle nicht beobachtet. Die intraperitoneal geimpften Tiere zeigten keine Beeinträchtigung des Gesundheitszustandes. Nach der Applikation der selbst hergestellten Vakzine konnten bei keinem Bullen sowohl im Vor- als auch im Hauptversuch Unverträglichkeitsreaktionen festgestellt werden. 12 Stunden nach der ersten Applikation der Serovakzine zeigte ein Bulle Zittern, Unruhe und Lidschwellungen vermutlich allergischer Genese; die nach antiallergischer Behandlung wieder abklangen. Bei sämtlichen mit eigener Vakzine geimpften Bullen traten an den Injektionsstellen im Durchschnitt ca 7 cm lange, 4,5 cm breite und 1,5 cm dicke Schwellungen auf. Die Haut darüber war unverändert und die Schwellung selbst kaum schmerzhaft. Die Schwellungen bestanden noch ca 4 Monate nach der 2. Injektion in fast unverminderter Größe. Bei den mit der Serovakzine geimpften Tieren bildeten sich walnußgroße Schwellungen an den Impfstellen, die bei Versuchsende noch in halber Größe vorhanden waren. Bei den Kontrolltieren, denen nur inkomplettes Freund'sches Adjuvans injiziert wurde, bildeten sich ca 3,5 cm lange und 3 cm breite Verdickungen aus, die ca 2 Monate nach der Injektion sich auf 2/3 ihres Umfanges verringert hatten.

3. Ergebnis der Prüfung auf Immunogenität

3.1. Aktiver Schutzversuch beim Bullen

Von den 12 Kontrollbullen (8 davon unbehandelt, 4 davon 2 mal im Abstand von 4 Wochen mit jeweils 5 ml inkomplettem Freund'schem Adjuvans ohne Antigen geimpft) waren 11 empfänglich für die Testinfektion. Von den 15 Bullen, die mit der industriell hergestellten Serovakzine 2- bzw. 3-mal vakziniert wurden, waren nur 3 Tiere empfänglich. 2 Bullen dieser Versuchsgruppe waren durch interkurrente Erkrankungen ausgefallen. Unter 16 mit der selbst hergestellten Vakzine geimpften Bullen haftete die Testinfektion nur bei einem Tier. Die Menge der auf Brilliantgrün- und Thioglykolat-Blutagar aus den Spülproben isolierten C.fetus - Kolonien war bei allen infizierten Tieren mit 2 - 8 pro Platte sehr gering, so daß keinerlei Unterschiede zwischen Kontrolltieren und den infizierten Impfungen erkennbar waren. Die als C.fetus fetus charakterisierten Bakterien erwiesen sich bei der biochemischen Differenzierung als katalasepositiv, bildeten kein H_2S in Cystinbouillon und wuchsen nicht in Nährmedium, dem 3,5 % NaCl zugesetzt wurde.

Tabelle 4 :

Infektionsschutz nach Vakzination von Bullen gegen die
Campylobakter fetus ven. Infektion

	Aulendorfer Vakzine	Industr.Sero- Vakzine	Kontrolltiere ungeimpft Adjuvans geimpft 	
Zahl der ge- impften Tiere	16	13 (15)	8	4
Nachweis der Infektion bei Tieren	1 (6,6%)	3 (23%)	7	4 (91,6%)
Immunität bzw. Resistenz gegen die Infektion	15	10	1	0
% geschützt bzw. resistent	93,4 %	77 %	8,4 %	

3.2. Antikörpertiter nach der Impfung

Die Bildung humoraler Antikörper nach der Vakzination mit den beiden Vakzinen bzw. nach der Infektion wurde an den Seren der Versuchsbullen untersucht. Bei den vakzinierten Bullen wurden Blutproben vor der Vakzinierung und vor der Belastung, bzw. bei 5 Bullen zusätzlich noch 7 Tage nach der Belastung (Ende der Mastdauer) gewonnen, während sie bei den Kontrollbullen vor und 20 Tage nach der Infektion gewonnen wurden.

3.2.1. Komplementbindungsreaktion

Durch die Komplementbindungsreaktion konnte bei den 16 Bullen, die mit der selbsthergestellten Vakzine geimpft wurden, 4 Wochen nach der Zweitvakzination ein mittlerer arithmetischer Titer von 1 : 100 festgestellt werden, der zwischen 1 : 40 und 1 : 240 schwankte. Fünf geimpfte Bullen, bei denen nach der Belastung der Titer nochmals bestimmt wurde, wiesen bei gleichem Antikörpertiter nur eine etwas stärkere Hemmung auf. Bei den Bullen, die mit der industriell hergestellten Vergleichsvakzine geimpft wurden, lag der mittlere AK-Titer 4 Wochen nach der Impfung und vor der Belastung bei 1 : 20, wobei sich die Werte zwischen 1 : 10 und 1 : 40 bewegten. Titerunterschiede zwischen Tieren, die 2- bzw. 3-mal vakziniert wurden, konnten nicht festgestellt werden. Die 4 Kontrolltiere, denen 2-mal inkomplettes Freund'sches Adjuvans injiziert wurde, hatten einen Titer von 0 bis 1 : 5 (3 Tiere 0, 1 Tier 1 : 5). Bei den nicht geimpften Kontrollen war ca 20 Tage nach der zweiten Infektion ein mittlerer Titer von 1 : 5 feststellbar, wobei die Werte zwischen 1 : 2 und 1 : 10 schwankten.

Tabelle 5:

Mittlerer Antikörpertiter bei der KBR von Bullen nach
Vakzination mit 2 Campylobakter fetus Impfstoffen

Antikörpertiter		Aulendorfer Vakzine	Industrielle Serovakzine	Kontrolltiere Inkomplettes Fr.Adjuvans	ungeimpft
	Anzahl der Tiere	16	15	4	8
	Vor der Vakzinierung	0	0	0	--
	Vor der Belastung	1:100 (40-240)	1:20 (10-40)	0 - 1:5	0
	7 bzw.20 Tage nach der Infektion	$\geq 1:100$	$\geq 1:20$	1:5 (1:2 - 1:10)	

3.2.2. Blutserumagglutination

Durch die Objektträgerschnellagglutination konnte bei den 16 Bullen, die mit der selbst hergestellten Vakzine geimpft wurden, mit dem zum Vakzinestamm homologen Antigen 4 Wochen nach der Zweitvakzination ein mittlerer Titer von 1 : 1500 festgestellt werden, wobei die Werte zwischen 1 : 640 und 1 : 2560 lagen. Bei den Bullen, die mit der industriell hergestellten Vakzine geimpft wurden lag der mittlere AK-Titer 4 Wochen nach der Impfung und vor der Belastung bei 1 : 200, wobei sich die Werte zwischen 1 : 80 und 1 : 320 bewegten. Titerunterschiede zwischen 2- und 3-mal vakzinierten Tieren konnten keine festgestellt werden. Bei den nur infizierten Kontrolltieren ergab sich ein mittlerer Agglutinationstiter von 1 : 20 (zw. 1 : 10 und 1 : 40). Die Negativkontrollen und die mit inkomplettem Freund'schem Adjuvans geimpften Tiere hatten Titer, die zwischen 1 : 5 und 1 : 20 schwankten.

4. Ergebnis des Feldversuchs

Bei der 3-maligen Untersuchung der Präputialspülproben und einer Präputialschleimprobe der vakzinierten Bullen, beginnend 4 Wochen post vacc., konnte weder bei den vor der Vakzination als infiziert festgestellten, noch bei den verdächtigen Bullen C.fetus fetus nachgewiesen werden. In mehreren Fällen konnte jedoch C.sputorum ssp. bubulus isoliert werden, der als apathogener Besiedler des Präputiums besonders bei Altbullen vorkommt (70).

Eine Untersuchung 4 Monate nach der Zweitvakzination, d.h. nach dreimonatigem Einsatz im vermutlich noch infizierten Deckring, hatte folgendes Ergebnis: Bei 2 Präputialspülproben, die im Abstand von einer Woche genommen wurden, konnte bei keinem der 12 untersuchten Bullen (2 wurden zwischenzeitlich wegen Aufgabe der Bullenhaltung abgeschafft) C.fetus fetus nachgewiesen werden, während wieder häufig wie bei der Erstuntersuchung C.sputorum ssp. bubulus auftrat. Aufgrund der Einsicht in die Deckregister der Bullenhaltungen konnte festgestellt werden, daß durch den Einsatz der Bullen normale Fruchtbarkeitsergebnisse erzielt werden konnten. Das war auch nach erneuter Untersuchung 6 Monate post vacc. der Fall

Tabelle 6 :

Mittlerer Antikörpertiter bei der Blutserumagglutination von Bullen nach Vakzination mit 2 Campylobakter fetus Impfstoffen

	Antikörpertiter	Aulendorfer Vakzine	Industrielle Serovakzine	Kontrolltiere	
				Inkompl. Fr.Adjuvans	ungeimpft
	Vor der Vak- zinierung	1:10	1:10	--	--
	Vor der Belastung	1:1500 (640-2560)	1:200 (80-320)	1:10	1:10
	7 bzw. 20 Tage nach der Infektion	$\geq 1:1500$	$\geq 1:200$	1:20 (10-40)	1:20 (10-40)

Tabelle 7 :

Ergebnis der Vakzination von Deckbullen im Feldversuch

Bullenstatus	infiziert	verdächtig
Zahl der Bullen vor der Vakzination	9	5
4 Wochen nach der Zweitvakzination	0	0
4 Monate nach der Zweitvakzination bzw. 3 Mon. nach Einsatz im natürl. Sprung	0	0

D BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Es wurde in Anlehnung an die Versuche von Clark (29, 23) und Bouters (13) geprüft, inwieweit eine Vakzinierung von Bullen gegen die C.fetus-Infektion unschädlich und wirksam ist. Die Schutzwirkung von bakteriellen Vakzinen hängt von der Menge und der Antigenwirkung der verwendeten Bakterien sowie vom ggf. zugesetzten Adjuvans ab. Für Vakzinen gegen die Campylobakteriose ist die Eignung der verschiedenen Stämme noch zu wenig untersucht und bleibt problematisch. Man verwendet grundsätzlich Vollantigene, meistens desselben Antigentyps, der die Infektion verursacht, beim Rind also die Typen A-1 oder A sub 1. Auch der Typ A-2 (13) wird verwendet und hat sich in den Versuchen von Bouters et al (13) gegen Infektionen mit dem Serotyp A-1 als wirksam und in der Kultur als besonders wachstumsfreudig gezeigt. Es war bei den vorgelegten Untersuchungen aus Mangel an Zeit und technischen Mitteln leider nicht möglich, die Schutzwirkung von A-1 und A-2 Vakzinen gegen eine A-1 Infektion vergleichend zu untersuchen, da jeweils mehrere Stämme verglichen werden müßten.

Körperantigene sollen nicht entscheidend für die Schutzwirkung sein. Durch die parenterale Immunisierung mit auf 80°C und höher erhitzten Bakterien wird keine Schutzwirkung erreicht. Das Vollantigen schützt nicht nur gegen homologe, sondern in gewissen Grenzen auch gegen heterologe O - Typen (8, 31). Wenn die immunisierende Wirkung wie danach anzunehmen von hitzelabilen Glykoproteid-Antigenen abhängt, sollten die Stämme für die Impfstoffherstellung nach der Anzahl und Art dieser Antigene ausgewählt werden. Vorläufig ist aber eine Identifizierung der verschiedenen Glykoproteid-Antigene noch schlecht möglich, und wegen des möglichen Antigenwechsels müßte eine Vakzine ein möglichst breites Spektrum an Glykoproteid-Antigenen aufweisen. Solange ein Modellversuch zum Nachweis der Schutzwirkung an kleineren Versuchstieren nicht zur Verfügung steht, bleibt nur übrig, beim Rind mit mehreren örtlichen, herdenspezifischen Stämmen als Impfstoffgrundlage zu arbeiten.

Da nach Clark (31) die Typen A-1 und A sub 1 sowie nach Bouters (13) der Typ A-2 als Impfstoffgrundlage geeignet sind, wurde die hier beschriebene Vakzine mit einem Stamm A-2 (D 177-4-76) und z.T. A-1 (D 260-4-75), allerdings nur für Feldversuche, hergestellt, die dem Einsatzbereich des zu prüfenden Impfstoffes entnommen worden waren. Die Belastung der Prüfungstiere erfolgte mit den A-1 Stämmen (D 500, D 532 und VB 242), da der A-2 Stamm sich im Übertragungsversuch auf Färsen als nicht venerisch übertragbar erwiesen hatte (94).

Die Tatsache, daß die hochkonzentrierte, selbst hergestellte Vakzine nicht alle Tiere gegen eine Testinfektion schützen konnte, könnte vermutlich darauf zurückgeführt werden, daß der A-2 Stamm nicht die gleichen oder nicht alle Glykoproteid-Antigene wie die im Belastungsversuch verwendeten A-1 Stämme enthielt. Mit diesem Umstand muß auch beim praktischen Einsatz der Vakzine gerechnet werden. In schon länger verseuchten Deckgemeinschaften sollte eine Vakzine deshalb bis auf weiteres mehrere enzootie-eigene Stämme enthalten, da mit der Zahl der persistierenden Infektionen die Wahrscheinlichkeit des Antigenwechsels steigt (34). Da der Feldeinsatz der hier zu prüfenden Vakzine aus epizootologischen und veterinärpolizeilichen Gründen ohne Verzug erfolgen mußte, konnte hier nur geprüft werden, ob eine aus einem herdenspezifischen Stamm nach bekanntem Muster hergestellte Vakzine unschädlich und wirksam ist. Eine Prüfung der Bedeutung von Oberflächenantigenen für die Schutzwirkung von Vakzinen muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Die zur prophylaktischen und therapeutischen Impfung von Zuchtbullen bestimmte Vakzine wurde an Mastbullen geprüft, da die Prüfung auf Unschädlichkeit und Wirksamkeit an der zu schützenden Tierart am sichersten ist. Es ist bekannt, daß die Stärke insbesondere einer örtlichen Immunität wie hier im Genitaltrakt mit dem Titer humoraler Antikörper oft nicht parallel geht. Dies trifft insbesondere für die agglutinierenden und komplementbindenden Antikörper zu. Durch die Titerhöhen von bakteriolytischen bzw. virusneutralisierenden Antikörpern lassen sich eher Rückschlüsse auf

die vorhandene Immunität ziehen, doch ist dieses Verfahren bei der Wirkungsprüfung von Vakzinen noch zu wenig untersucht.

Trotzdem schien es lohnend, die Versuchstiere auch serologisch zu untersuchen, um die Unterschiede zwischen Impf- und Infektionstiter und zwischen den beiden verwendeten Vakzinen zu ermitteln. Mit Hilfe der Komplementbindung konnten objektivere Titer ermittelt werden als durch die Agglutination. Zu dem gleichen Ergebnis kommt auch De Keyser (38).

Ungeimpfte Tiere wiesen in der Komplementbindung keine Titer auf. Die Injektion von inkomplettem Freund'schem Adjuvans allein führte zu geringgradigen Reaktionen bei einem Teil der damit behandelten Tiere, die aber unter einem Titer von 1 : 5 bleiben. Immerhin wird von Mitscherlich (80) ein Titer von 1 : 2 schon als beweisend für eine Campylobakteriosis (Vibriosis) angesehen.

Eine zweimalige präputiale Infektion führte bei unseren ungeimpften Kontrolltieren zu geringen Titern zwischen 1 : 5 und 1 : 10. Wenn auch einige Autoren (109) die Blutuntersuchung zur Diagnose der Campylobakteriose als unzuverlässig halten, mag es darauf zurückzuführen sein, daß die verwendeten Antigene für das zu untersuchende Serum möglicherweise nicht voll agglutinabel waren. Falsch positive Ergebnisse könnten dadurch entstehen, daß intestinale Stämme vom Serotyp A (01) im Darm oder in der Gallenblase auftreten und zu Antikörperbildung führen (17, 53). Dem gegenüber hatten geimpfte Tiere deutlich erhöhte Komplementbindungstiter; mit eigenem Impfstoff durchschnittlich 1 : 100 (40 - 240), mit industrieller Serovakzine 1 : 20 (10 - 40). Diese Titer stiegen nach Testinfektionen nur undeutlich an, wie schon andere Autoren berichtet haben (64, 96). Blutproben von Tieren, bei denen die Testinfektion nicht anging, hatten keine höheren Bluttiters als Tiere, bei denen die Infektion haftete. Wenn auch die Zahl der Tiere für weitreichende Schlüsse zu klein ist, ließen sich doch auch in diesem Versuch aus der Höhe der ermittelten Komplementbindungstiter innerhalb einer Impfstoffgruppe keine Schlüsse auf den Eintritt einer Immunität ziehen. Andererseits zeigten aber alle

Tiere der beiden Versuchsgruppen - eigene Vakzine mit inkompl. Freund'schem Adjuvans und industr. Serovakzine mit Aluminium-Hydroxid eindeutige Titerdifferenzen im Verhältnis von etwa 5 : 1 (4 : 1 - 6 : 1), denen der unterschiedliche Prozentsatz geschützter Tiere (93 % gegen 77 %) entspricht.

Der Einfluß der Konzentration des Antigens und der Art des Adjuvans auf die Titerhöhe von Serumantikörpern und auf die erzielbare Immunität dürfte unbestritten sein. Da die Verwendung von inkomplettem Freund's Adjuvans zu Verdickungen an der Impfstelle führt, kann es von Interesse sein, verträglichere Adjuvantien auf ihre Wirkung zu prüfen. Weil jedoch die etwas schwächere Schutzwirkung der Vergleichsvakzine auf das Adjuvans zurückgeführt werden könnte, wurden die Lokalreaktionen hinsichtlich der Wirkungssteigerung in Kauf genommen.

Damit eignen sich die serologischen Untersuchungen an Bullen mit Sicherheit zur Ermittlung einer vorangegangenen Schutzimpfung. Bei unbehandelten Jungbullen kann anhand geringer KBR-Titer (1 : 5 - 1 : 10) auf das Vorliegen einer Infektion geschlossen werden, während dies bei im STUA durchgeführten Untersuchungen an Altbullen nicht der Fall war. Die Untersuchung von 25 Besamungsbullen ergab bei 5 Bullen einen Titer von 1 : 5 und bei 4 Bullen einen Titer von 1 : 10, ohne daß bei den Bullen eine Präputialinfektion durch *C.fetus* festgestellt wurde. Diese Titer können auf die Antigenwirkung intestinaler Besiedlungen mit *Campylobakter*-Typen (75), aber auch auf eine unspezifische Reizung des Immunsystems zurückgeführt werden. Dafür spricht, daß durch zweimalige subkutane Applikation von komplettem Freund's Adjuvans bei Versuchsbullen bei der KBR Titer von 1 : 40 bis 1 : 80 und bei der BSSA Titer erhalten wurden, die sich zwischen 1 : 80 und 1 : 320 bewegten. Die Titer bewegten sich somit etwa auf der Höhe, wie die von vakzinierten Tieren.

Zur Bekämpfung der *Campylobakter fetus*-Infektion besteht die Möglichkeit einer Vakzinierung der weiblichen und / oder der männlichen Tiere. Infektionsprophylaktisch, vor allem aber

auch wirtschaftlich dürfte es jedoch günstiger sein, die Infektion beim Überträger zu bekämpfen als beim Endwirt. Es muß deshalb angestrebt werden, einen möglichst hohen Bekämpfungserfolg beim Bullen zu erreichen. Deckinfektionen spielen in Oberschwaben noch eine Rolle, da derzeit hier noch 40 - 50 % der weiblichen Rinder im natürlichen Sprung angepaart werden. Es bestehen neben den Besamungsstationen noch zum Teil sehr gut funktionierende Farrenhaltungsvereine bzw. Gemeindebullenhaltungen. Die Besamungsstationen rekrutieren sich aus zuchtwertgeprüften Altbullen und haben einen erheblichen Durchgang an Testbullen, die dort 6 - 8 Wochen zur Spermagewinnung für eine begrenzte Zahl von Testbesamungen stehen. Nach dieser Zeit kehren sie zu ihren Besitzern, meist Farrenhaltungsvereinen und Gemeindebullenhaltungen zurück, um eventuell nach 4 - 4 1/2 Jahren, falls sie sich als positive Vererber erwiesen haben, von den Besamungsstationen wieder übernommen zu werden. Solange in den Herdbuchzuchten und Gemeinden noch latente Deckinfektionen vorkommen, ist durch diesen ständigen Wechsel eine gegenseitige Einschleppung der Infektion möglich.

Im Feldversuch konnte durch die selbst hergestellte Vakzine sowohl therapeutisch als auch prophylaktisch eine gute Wirkung erzielt werden. Ergebnisse von Impfungen an einer Besamungsstation ergaben, daß auch hier durch die Vakzination (in Kombination mit antibiotischer Behandlung) besser als durch antibiotische Behandlung allein, gerade auch Altbullen von einer persistierenden Infektion befreit werden konnten (45).

Unter Einsatz der Schutzimpfung könnte eine befriedigende und die regionale Struktur der Rinderzucht berücksichtigende Sanierung von C.fetus venerealis-Infektionen folgendermaßen ablaufen :

1. Vorübergehende Sperre der Bullen und Besamung der Rinderbestände.
2. Zweimalige Impfung aller Deckbullen und darauf folgende jährliche Revakzination.
3. Tierärztliche Untersuchung und Behandlung aller fruchtbarkeitsgestörten Tiere vor erneuter Bedeckung.
4. Strenge Einhaltung der Hygiene auf Besamungsstationen und in Farrenhaltungen.

E ZUSAMMENFASSUNG

16 Bullen wurden zweimal subkutan mit einer selbst hergestellten Vakzine geimpft, die aus formalinaktivierten C.fetus A-2 (01 intestinalis) Zellen bestand, und 15 Bullen mit einer industriell hergestellten Vakzine zwei- bzw. dreimal geimpft. Die geimpften - sowie 12 Kontrollbullen wurden zweimal im Abstand von 10 Tagen mit einem C.fetus venerealis-Kulturgemisch präputial infiziert. Das Alter der Bullen schwankte zwischen 12 und 18 Monaten.

Von 16 mit der selbst hergestellten Vakzine geimpften Bullen waren 15 und von 13 mit der industriellen Vakzine geimpften Bullen 10 gegen massive Testinfektion geschützt. Bei 12 in gleicher Weise infizierten Kontrollbullen haftete die Infektion bei 11 Tieren.

Neun infizierte und fünf ansteckungsverdächtige Bullen im Alter zwischen zweieinhalb und neun Jahren, die im natürlichen Deckeinsatz in infizierten Deckringen standen, wurden zweimal mit der selbst hergestellten Vakzine geimpft. Bei der Untersuchung ein und vier Monate nach der Zweitvakzination, letzteres nach dreimonatigem Deckeinsatz in infizierten Herden, konnte bei keinem der Bullen mehr eine Infektion festgestellt werden.

4 Wochen nach der Zweitvakzination war der mittlere Blutserumantikörpertiter bei den Bullen, die mit der selbst hergestellten Vakzine geimpft wurden, bei der KBR 1 : 100 und bei der Agglutination 1 : 1500. Die mit der Vergleichsvakzine geimpften Bullen wiesen Titer von 1 : 20 bzw. 1 : 200 auf. 20 Tage nach der Infektion wurde bei den Kontrollbullen durch die KBR ein mittlerer Titer von 1 : 5 bzw. ein Agglutinationstiter von 1 : 20 festgestellt.

Summary

Experimentally, 16 bulls were vaccinated subcutaneously with a vaccine prepared by ourselves, containing formalized C.fetus A-2 cells, and 15 bulls with a commercially produced vaccine. The vaccinated bulls and 12 non vaccinated controls were exposed to genital infection two times with an interval of ten days. The age of the bulls ranged from 12 to 18 months.

Of 16 bulls vaccinated with the self-prepared vaccine 15 were protected against heavy preputial infections, of 13 bulls vaccinated with a commercially prepared vaccine 10 were protected. Of 12 control-bulls 1 resisted infection.

Nine infected and five suspectedly infected bulls between 2,5 and 9 years of age serving under field conditions, were given two subcutaneous injections of the self prepared vaccine. No evidence of infection could be detected by examination one and four months after the second vaccination respectively three months after serving in infected premises.

Four weeks after the second vaccination, mean serum antibody titers of the bulls vaccinated with the self prepared vaccine were 1 : 100 in the complement fixation test and 1 : 1500 in the serum agglutination test. Those vaccinated with the control-vaccine had titers of 1 : 20 and 1 : 200 respectively. Twenty days after the infection the control-bulls had mean titers of 1 : 5 in the complement-fixation and 1 : 20 in the agglutination test.

F LITERATURVERZEICHNIS

1. Adler, H.C. Diagnosticering of *Vibrio foetus*
Albertson, B.E. infectionen hos tyre ved smitte
Rasbech, N.O. forsøg
Szabo, L. (Diagnosis of *Vibrio foetus*
 infection in bulls)
Nord. Vet. Med. 4, 462, 1952
2. Adler, H.C. Testing for *V.fetus* infections of
 Danish A.I. bulls
Proc. Third. Int. Congr. Animal
Reprod.
(Cambridge) Section. II, 5, 1956
3. Adler, H.C. Genital vibriosis in the bovine
 AS. Carl Fr. Mortensen Kobenhaven
 1957
4. Adler, H.C. Die Diagnose der Vibriosis
 genitalis bovis
Zuchthyg. 3, 53, 1959
5. Ähnelt, E. Richtlinien und Vorschläge zur
 Durchführung der Rinderbesamung.
Arbeitsgemeinschaft deutscher
Rinderzüchter Heft 27 Verlag
M. u. H. Schaper Hannover 1960
6. Allan, P.J. The effect of vaccination against
Mutch, C.B. bovine vibriosis on the pregnancy
 rates in a northern Queensland
 beef herd
Austr. vet. J. 47, 184, 1971
7. Allan, P.J. A field evaluation of vaccination
 of bulls against bovine vibriosis
Austr. vet. J. 48, 72, 1972

8. Berg, R.L. A revised classification of
Jutila, J.W. *Vibrio fetus*
Firehammer, B.D. *Am. J. vet. Res.* 32, 11, 1971
9. Berg, R.L. Protective antigens of *Vibrio*
Firehammer, B.D. foetus in sheep
Hawkins, W.W. *Am. J. vet. Res.* 30, 1289, 1969
10. Berg, R.L. Abstr. 55 th. Annu. Meeting Conf.
Firehammer, B.D. Res.
Border, M. *Workers Animal Dis.* p.78, 1973
Myers, L.L.
11. Bisping, W.J. Nachweis und Vorkommen der *V.fetus*
Langenegger, J. Infektion beim Bullen in Nordwest-
Winkenwerder, W. deutschland und Vorschläge zu
deren Bekämpfung
DTW 71, 285 u. 321, 1964
12. Bouters, R. Committee for sterility control of
Vandeplassche, M. the Gent Veterinary Faculty. Report
for the year 1968
Vlaam diergeneesk. T. 38, 17 u. 29,
1969
13. Bouters, R. *Vibrio fetus* infection in bulls :
De Keyser, J. Curative and preventive vaccination.
Vandeplassche, M. *Br. vet. J.* 129, 51, 1973
Van Aert, A.
Brone, M.
Bonte, P.
14. Bouters, R. Immunity and fertility of heifers
De Keyser, J. vaccinated against *Vibrio fetus*
Vandeplassche, M. *Tijd. Diergeneesk.* 45, 207, 1976
Van Aert, A.
15. Bryner, J.H. A premilary report on the
Frank, A.H. identification of *vibrio fetus*
Am. J. vet. Res. 16, 76, 1955

16. Bryner, J.H. Dissociation studies of vibriosis
Frank, A.H. from the bovine genital tract
O'Berry, P.A. Am. J. vet. Res. 23, 32, 1962

17. Bryner, J.H. Studies of Vibriosis from
O'Berry, P.A. gallbladder of market sheep and
 cattle
 Am. J. vet. Res. 33, 1439, 1972

18. Carroll, E.J. Diagnosis and control of bovine
Hörlein, A.B. genital vibriosis
 J.A.V.M.A. 161, 1359, 1972

19. Carrier, S.P. Bactericidal effect and serological
Kramer, T.T. response if blood and secretions in
 bovine vibriosis
 Infect. Immun. 3, 405, 1971

20. Clark, B.L. Experimental Vibrio fetus infection
Newsam, J.B. in cows
 Austr. vet. J. 43, 341, 1967

21. Clark, B.L. Control of bovine vibriosis by
Dufty, J.H. vaccination
 Austr. vet. J. 43, 437, 1967

22. Clark, B.L. Experimental Vibrio fetus (ven)
Dufty, J.H. infection in heifers: The
Monsborough, M.J. immunising properties of killed
 organisms injected subcutaneously
 Austr. vet. J. 44, 110, 1968

23. Clark, B.L. Vaccination of bulls against
Dufty, J.H. bovine vibriosis
Monsborough, M.J. Austr. vet. J. 44, 530, 1968

24. Clark, B.L. Vaccination of heifers with
 Vibrio fetus (intestinalis type)
 against infection with Vibrio fetus
 (genital type)
 J. comp. Path. 80, 47, 1970

25. Clark, B.L. Review of bovine vibriosis
Austr. vet. J. 47, 103, 1971
26. Clark, B.L. Immunisation against bovine
Dufty, J.H. vibriosis : Comparison of the
Monsbourgh, M.J. protective properties of bacterins
prepared by two methods
Austr. vet. J. 48, 376, 1972
27. Clark, B.L. Immunisation against bovine
Dufty, J.H. vibriosis : Studies on the
Monsbourgh, M.J. immunisation of yearlings and calves
Austr. vet. J. 48, 382, 1972
28. Clark, B.L. Immunisation against bovine
Fitzpatrick, D.H. vibriosis : Vaccination against
bovine vibriosis in a commercial
beef herd in Victoria
Austr. vet. J. 48, 385, 1972
29. Clark, B.L. Immunisation against bovine
Dufty, J.H. vibriosis : Vaccination of bulls
Monsbourgh, M.J. against infection with Campylo-
Parsonson, J.M. bacter fetus subsp. venerealis
Austr. vet. J. 50, 407, 1974
30. Clark, B.L. Studies on venereal transmission
Dufty, J.H. of C.fetus by immunised bulls
Monsbourgh, M.J. Austr. vet. J. 51, 531, 1975
Parsonson, J.M.
31. Clark, B.L. Immunisation of cattle against
Dufty, J.H. vibriosis with vaccines prepared
from C.fetus subsp. fetus
Austr. vet. J. 51, 333, 1975

32. Corbeil, L.B. Bovine venereal vibriosis :
Duncan, J.R. Variations in immunoglobulin
 class of antibodies in genital
 secretions and serum
 Infect. Immun. 10, 1084, 1974

33. Corbeil, L.B. Immunglobulin classes and biolo-
Schurig, G.D. gical functions of C.(V) fetus
Duncan, J.R. antibodies in serum and cervico-
Corbeil, R.R. vaginal mucus
Winter, A.J. Infect. Immun. 10, 422, 1974

34. Corbeil, L.B. Bovine venereal vibriosis:
Schurig, G.D. Antigenic variation of the
Bier, P.J. bacterium during infection
Winter, A.J. Infect. Immun. 11, 240, 1975

35. Dedié, K. pers. Mitteilung

36. Dedié, K. Die Vibriosis genitalis des Rindes
Voigt, A. in Mitteldeutschland
 Mh. Vet.Med. 19, 463, 1955

37. Dedié, K. Vorkommen und Pathogenität glycin-
Pohl, R. positiver Stämme des Vibrio
Reißhauer, K. (Campylobakter)fetus Serotyp 01
 Zbl. Vet. Med. Reihe B 1977
 im Druck

38. De Keyser, J. pers. Mitteilung

39. Doza, L.R. Histological changes of the uterine
Mitchell, G. mucosa following the duration of
Olson, N.O. Vibrio infection and the sub-
 sequent development of immunity
 Am. J. vet. Res. 23, 769, 1962

40. Dufty, J.H. Diagnosis of vibriosis in the bull
 Austr. vet. J. 43, 433, 1967
41. Easterbrooks, H.L. Vibriosis, its pathogenesis and
 Plastringe, W.N. management
 Vet. Med. 48, 63, 1953
42. Eichhorn, A.A. Report on the meeting of the panel
 of bovine genital vibriosis
 Rome. FAO., 57, 5703, 1957
43. Ellen, R.P. M protein - associated adherence
 Gibbons, R.J. of *Streptococcus pyogenes* to
 epithelial surfaces : Prerequisite
 for virulence
 Infect. Immun. 5, 826, 1972
44. Firehammer, B.D. Bacterins for immunisation against
 Berg, R.L. bovine vibriosis
 J.A.V.M.A., 149, 1640, 1966
45. Fischer, A. pers. Mitteilung
46. Florent, A. Über die Diagnose der Genital-
 vibriose des Rindes
 Zuchthyg. 3, 30, 1959
47. Florent, A. Types of *Vibrio fetus* infection
 in cattle
 Proc. Int. Vet. Congr. Madrid.
 2, 489, 1959
48. Florent, A. A propos des vibrions responsable
 de la vibriose genitale des
 bovins et des ovins
 Bull. Off. int. Epiz. 60, 1063, 1963

49. Frank, A.H. Vibriosis: Report of the committee
on infectious diseases of cattle
Proc. 62nd Meeting of the
US.Livestock San.A. 162, 1958
50. Frank, A.H. Cellular changes in the
Shalkop, W. endometrium of *Vibrio fetus*
infected and non infected heifers
Am.J.vet. Res. 23, 1213, 1962
51. Frank, A.H. The effect of *Vibrio fetus*
Bryner, J.H. vaccination on the breeding
O'Berry, P.A. efficiency of cows bred to *Vibrio*
fetus infected bulls
Am.J.vet. Res. 28, 1237, 1967
52. Gminder, Nachweis von Spirillen als Ursache
des ansteckenden Verkalbens in
Deutschland
B.tä.W. 38, 184, 1922
53. Hessling, H. Epidemiologische Untersuchungen
über das Vorkommen von *Vibrio fetus*
O1 (ven.) im Darmkanal von Rindern
Vet. Med. Dissertation Hannover 1973
54. Hörlein, A.B. Artificial stimulation of resistance
Kramer, T.H. to bovine vibriosis
Am. J. vet. Res. 24, 951, 1963
55. Hörlein, A.B. Artificial stimulation of resistance
Kramer, T.H. to bovine vibriosis (Use of bacterins)
Am.J.vet.Res. 25, 371, 1964
56. Hörlein, A.B. Bovine vibriosis immunisation
Caroll, E.J. J.A.V.M.A. 146, 828, 1965

57. Hörlein, A.B. Bovine genital vibriosis: In abortion diseases of livestock Edited by L.C.Faulkner, Charles C.Thomas, Springfield, Ill. 18, 1968
58. Hörlein, A.B. Duration of immunity to bovine genital vibriosis
Caroll. E.J. J.A.V.M.A. 156, 775, 1970
59. Hörlein, A.B. Diagnosis and control of bovine genital vibriosis
Caroll, E.J. J.A.V.M.A. 161, 1359, 1972
60. Hubrik, Th. Zur bakteriologischen und serologischen Diagnose von Vibrio fetus Zuchthyg. 3, 16, 1959
61. Hubrik, Th. Vibriosis genitalis des Rindes, in Beer: Infektionskrankheiten der Haustiere Teil II VEB Gustav Fischer Verlag Jena 483, 1974
62. Hughes, D.E. A study of the diagnosis of bovine vibriosis with special reference to the detection of agglutinins in the vaginal mucus Corn. Vet., 43, 431, 1953
63. Kendrick, J.W. Fertility and immune reaction of heifers vaccinated with an adjuvanted Vibrio fetus vaccine
Williams, J. J.A.V.M.A. 158, 1531, 1971
Vestal, T.J.
64. Kramer, T.H. Serologic response of heifers vaccinated and exposed to vibriosis
Hörlein, A.B. Am.J.vet.Res. 30, 1089, 1969

65. Krieg, N.R. Family Spirillaceae, Genus II
Spirillum, in:
Bergey's Manual, Determinative
Bacteriologie, 8 th Edition,
196, 1974
66. Kuzdas, C.D. Physiological characteristics
Morse, E.U. differentiating *Vibrio fetus* and
Eichhorn, A.A. other vibrios
Am.J.vet.Res. 17, 331, 1956
67. Laing, J.A. *Vibrio fetus* infection of cattle
Rev. ed. FAO Rome No.51, 1960
68. Lawson, J.R. *Vibrio fetus* infection in cattle
Mc. Kinnon, D.J. Vet. Rec. 64, 763, 1952
69. Lawson, J.R. Some genital infections and their
association with infertility and
reproductive failures
Int.Congr.Anim.Reprod.Cambridge
Plenary papers 42, 1956
70. Lein, D. Diagnosis, treatment and control
Erickson, J. in an artificial insemination
Winter, A.J. center
Mc Entée, K. J.A.V.M.A. 153, 1574, 1968
71. Ließ, B. Die Isolierung der beim Schaf und
Rind vorkommenden Vibrionen und
ihre kulturelle und serologische
Differenzierung
Mh. Tierhkd. 10, 267, 1958

72. Marsh, H. Serological relationships of
Firehammer, B.D. twenty-three ovine and the three
 bovine strains of *Vibrio fetus*
 Am.J.vet.Res. 14, 396, 1953
73. Mc Coy, E.C. Superficial antigens of *Campylo-*
Doyle, D. bacter fetus : Characterization
Burda, K. of an antiphagozytic component
Corbeil, L. Infect. Immun. 11, 517, 1975
Winter, A.J.
74. Mc Entée, K. Prevention of vibriosis in
Hughes, E. inseminated heifers by treating
Gillmann, H.L. the semen from *Vibrio*-infected
 bulls with Penicillin,
 Streptomycin and Sulfanilamide
 Corn.vet. 44, 395, 1954
75. Mehle, J. *Vibrio fetus* Typ I im Verdauungs-
 trakt vom Rind:
 Der Wert der Komplementbindungs-
 reaktion in der serologischen
 Diagnostik der Genitalvibriose
 Vet.Glas. 25, 165, 1971
76. Melrose, P.N. The treatment of *Vibrio fetus*
Morgan, W.J. infected bulls
Steward, D.L. Vet. Rec. 69, 691, 1957
Thomson, D.M.

77. Mitchell, D. Some effects of experimental
Vibrio fetus (venerealis)infection
on cattle inoculated with a
commercial bacterin
Can.J.comp.Med. 32, 474, 1968
78. Mitscherlich, E. Die serologische Differenzierung
Ließ, B. von Vibrio fetus Stämmen
DTW 65, 2 u. 36, 1958
79. Mitscherlich, E. Die Verbreitung der Vibrio fetus-
Ließ, B. Infektion des Rindes in den
Prange, G. südlichen Kreisen Niedersachsens
Baumgarte, G. DTW 65, 490, 1958
Lietsch , CB.
80. Mitscherlich, E. Die Vibriosis genitalis des Rindes
Prange, H. DTW 66, 521 u. 559, 1959
81. Mitscherlich, E. Formenwechsel der O-Antigene bei
Heider, R. Vibrio fetus
Zbl. Vet. Med. 15, 486, 1968
82. Newhall, J.H. Results of field trials and
controlled laboratory studies of
bovine vibriosis bacterins
J.A.V.M.A. 149, 1643, 1966
83. Newsam, J.D.B. Persistence of Vibrio fetus in the
Peterson, J.E. genital tract of experimentally
infected heifers
Brit. vet. J. 120, 223, 1964
84. v.Nieuwenhuysse, E. Het overzetten van de Vibrio
fetus infectie in de kunstmatige
inseminatie
Vlaam diergeneesk.T.24, 137, 1955

- | | | |
|-----|---|--|
| 85. | Osborne, J.C.
Smiberth, R.M. | Vibrio fetus toxin I :
Hypersensitivity and abortifacient
action
Corn.vet.: <u>54</u> , 561, 1964 |
| 86. | Pederson, K.B.
Aalund, O.
Nansen, P.
Adler, H.C. | Immunofluorescent immunoglobulin
differentiation of Vibrio fetus
antibodies from bovine cervico-
vaginal secretions
Acta vet. scand. <u>12</u> , 303, 1971 |
| 87. | Peterson, J.E.
Newsam, J.D.B. | The histopathology of genital
vibriosis in virgin heifers
Brit. Vet. J. <u>120</u> , 229, 1964 |
| 88. | Philpott, M. | Studies on vibriosis in an
A.I.stud.
Vet. Rec. <u>85</u> , 405, 1969 |
| 89. | Plastridge, W.N.
Petrie, D. | Vibrionic abortion in cattle
Am. J. vet. Res. <u>8</u> , 178, 1947 |
| 90. | Plastridge, W.N.
Williams, L.T.
Atternak, C. | The effect of vibriosis on
breeding efficiency in cattle
J. A. V. M. A. <u>118</u> , 367, 1951 |
| 91. | Plastridge, W.N.
Easterbrooks, H.L. | Effect of antibiotics in diluted
bull semen on Vibrio fetus
Am. J. vet. Res. <u>13</u> , 145, 1952 |
| 92. | Plastridge, W.N. | Vibriosis
Adv. Vet. Sci. <u>2</u> , 326, 1955 |
| 93. | Plastridge, W.N.
Kersting, E.J.
Williams, L.F. | Resistance of vaccinated heifers
to vibriosis
Am. J. vet. Res. <u>27</u> , 186, 1966 |
| 94. | Pohl, R. | pers. Mitteilung |

103. Shewan, J.M.
Veron, M. Family II Vibrionaceae, Genus I
Vibrio: in Bergey's Manual,
Determinative Bacteriologie,
8 th Edition, 340, 1974
104. Smith, Th. Spirilla associated with disease
of the fetal membranes in cattle
(infectious abortion)
J.exp.med. 28, 701, 1918
105. Smith, Th.
Taylor, M.S. Some morphological and biological
characters of the spirilla (Vibrio
fetus, N.sp.) associated with
disease of the foetal membranes in
cattle
J.exp.med. 30, 299, 1919
106. Smiberth, N.R. Family Spirillaceae, Genus II
Campylobacter in: Bergey's Manual,
Determinative Bacteriologie,
8 th Edition, 207, 1974
107. Spincemaille 1972, zit. nach Bouters (13)
108. Stegenga, T.
Terpstra, J. Over Vibrio fetus infectis bij
het rund en 'enzootisch' steriliteit
Tijd.Diergeneesk. 74, 293, 1949
109. Terpstra, I.
Eisma, W.A. Vibrio fetus infection in cattle
and enzootic infertility
Tijd.Diergeneesk. 76, 433, 1951
110. Te Punga, W.A. Vibriosis in cattle Part 3 : Studies
on control by vaccination
N.Z.vet.J. 10, 89, 1962
111. Te Punga, W.A.
Boyes, B.W.
Young, J.
Wallace, W.M. Vibriosis in cattle Part 4 : Further
studies on control by vaccination
N.Z.vet.J. 12, 121, 1964
112. Vandeplassche, M.
Bouters, R. pers. Mitteilung

113. Vandeplassche, M. Die Epidemiologie und die Bekämpfung der Vibriosis genitalis bovis
Zuchthyg. 3, 1, 1959
114. Vandeplassche, M. The pathogenesis, epidemiology
Florent, A. an treatment of *Vibrio fetus*
Bouters, R. infection in cattle
Huysman, A. Compt.Rend.Recherchers, 29, 1, 1963
De Keyser, P.
115. Veron, M. Taxonomic study of the genus
Chatelain, R. *Campylobacter* Sebald and Véron
and designation of the neotype
strain for the type species
Campylobacter fetus (Smith and
Taylor) Sebald and Veron.
Int.J.Syst.Bacteriol. 23, 122, 1973
116. Wagner, W.C. The incidence of vibriosis in an
Dunn, H.O. A.I. stud
Van Vleck, L.D. Corn. Vet. 55, 209, 1965
117. Wan-ju Chang, Transduction and mutation to
Ogg, J.E. glycin tolerance in *Vibrio fetus*
Am. J. vet. Res. 32, 649, 1971
118. Wiidik, R.W. Untersuchungen über die antigene
Hlidar, G.E. Struktur von *Vibrio fetus* vom
Rind. Das Kapsel oder K-Antigen
von *Vibrio fetus*
Zbl. Vet. Med. 2, 238, 1955
119. Wilkie, B.N. Bovine vibriosis : The distribution
Winter, A.J. and specifity of antibodies induced
by vaccination and infection and
the immunofluorescent localization
of the organism in infected heifers
Can.J.comp.Med. 35, 301, 1971

120. Wilkie, B.N.
Duncan, J.R.
Winter, A.J. The origin, class and specificity
of immunoglobulins in bovine
cervico-vaginal mucus: Variation
with parenteral immunisation and
local infection with *Vibrio fetus*
J.Reprod.Fert. 31, 359, 1972
121. Winter, A.J. Characterization of the antibody
for *Vibrio fetus* endotoxin in sera
of normal and *Vibrio fetus*
infected cattle
J.Immunol. 95, 1002, 1965
122. Winter, A.J. The antigenic analysis of *Vibrio*
fetus. III : Chemical, biologic
and antigenic properties of the
endotoxin
Am.J.vet.Res. 27, 653, 1966
123. Winter, A.J. Vibriosis : Toward an understanding
of immunity in genital infections
Corn. Vet. 63, 5, 1973

Mein herzlicher Dank gebührt Herrn Professor Dr. K. Dedié,
Leiter des Tierärztl. Untersuchungsamtes Aulendorf, für die
Überlassung des Themas und für die gebotene Möglichkeit
zur Durchführung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. Dr.h.c. A. Mayr möchte ich für wertvolle
Hinweise und die Durchsicht der Arbeit danken.

Lebenslauf

Am 6. Mai 1950 wurde ich, Engelbert Albrecht, als Sohn des Engelbert Albrecht und seiner Ehefrau Anna, geb. Mähr, in Ulm/Donau geboren.

Nach 5 Volksschulklassen in Allmendingen trat ich 1962 in das math.-nat. Gymnasium in Ehingen/Donau ein und legte dort 1970 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1971/72 begann ich im Fachbereich Tiermedizin der Universität München mit dem Studium der Tiermedizin. Dieses schloß ich 1976 mit dem Staatsexamen ab.

